

AUS DEM INSTITUT FÜR ANATOMIE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN
LEITER: PROF. DR. MED. W. Schwarz

ULTRASTRUKTURELLE VERÄNDERUNGEN GLATTER
MUSKELZELLEN DES DÜNNDARMS DER MAUS
"IN VITRO" IN VERSCHIEDENEN
FUNKTIONSZUSTÄNDEN

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde im
Fachbereich Natur- und Sozialwissenschaftliche
Grundlagenmedizin und medizinische Oekologie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

ASSISTENZÄRZTIN MONIKA WERNER
aus Mannheim

1976

AUS DEM INSTITUT FÜR ANATOMIE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN
LEITER: PROF.DR.MED.W.Schwarz

ULTRASTRUKTURELLE VERÄNDERUNGEN GLATTER
MUSKELZELLEN DES DÜNNDARMS DER MAUS
"IN VITRO" IN VERSCHIEDENEN
FUNKTIONSZUSTÄNDEN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde im
Fachbereich Natur- und Sozialwissenschaftliche
Grundlagenmedizin und medizinische Oekologie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
ASSISTENZÄRZTIN MONIKA WERNER
aus Mannheim

Referent: Prof. Dr. med. D. Graf von Keyserlingk

Korreferent: Prof. Dr. med. E. Stöcker

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 18. August 1976

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
A. EINLEITUNG	1
I. Literaturüberblick	1
II. Fragestellung	12
 B. MATERIAL UND METHODEN	 12
 C. BEFUNDE	 14
I. Verhalten der Muskelpräparate "in vitro"	14
II. Elektronenmikroskopische Beurteilung der Ultrastruktur glatter Muskelzellen in verschiedenen Funktionszuständen	15
a) Erschlaffung mit Aetherdämpfen	17
b) Erschlaffung mit Suprarenin	21
c) Kontraktion mit Acetylcholin	22
d) Kontraktion mit KCl	25
e) "in vivo" fixierte Muskelzellen	29
f) unbehandelte "in vitro" fixierte Muskelzellen	30
 D. DISKUSSION	 30
 E. ZUSAMMENFASSUNG	 38
 F. ABBILDUNGEN	 39
 G. LITERATUR	 I - VII



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549013_0060

A. EINLEITUNG

Trotz intensiver elektronenmikroskopischer Untersuchungen in den vergangenen 15 Jahren gelang es bisher nicht, Klarheit über selbst elementarste Vorgänge im Kontraktionsmechanismus der glatten Muskulatur der Wirbeltiere zu erlangen. Die ersten elektronenmikroskopischen Aufnahmen glatter Muskelzellen zeigten nach Fixierung mit gepuffelter Osmiumsäure nur eine Art von Myofibrillen mit einem Durchmesser von etwa 100 Å. Wohl wurden von einigen Autoren unterschiedliche Anfärbbarkeit einzelner Muskelzellen beobachtet, doch war man sich über deren Bedeutung im unklaren. Die größten Probleme ergaben sich aus der Unkenntnis über eventuelle Veränderungen während der Fixierung und Einbettung und aus der Unmöglichkeit, einen einheitlichen Funktionszustand zu definieren. Man begann mit isolierten Muskelstreifen zu experimentieren.

I. Literaturüberblick

Als erste ging GANSLER (1960) daran, systematisch nach morphologischen Strukturunterschieden der kontrahierten und erschlafften Muskelzelle in isolierten Muskelpräparaten zu suchen und sie mit denen intakter Muskelzellen zu vergleichen. Mit Hilfe eines Mechanogramms gewann sie Aufschluß über den jeweiligen Funktionszustand. Nach ihren Angaben unterscheiden sich morphologisch kontrahierte von erschlafften Muskelzellen. Im Erschlaffungszustand findet sie helle, dicht nebeneinanderliegende Zellen mit glatter Oberfläche und einem homogenem Kern. Die kontraktile Substanz besteht aus ungeordneten, dünnen (40 Å) Filamenten. Im Kontraktionszustand erscheinen die Muskelzellen dunkler, unregelmäßiger gestaltet und weiter auseinanderliegend. In den erschlafften Muskelstreifenpräparaten zeigen die einzelnen Muskelzellen

eine parallele Anordnung, in den Kontrahierten dagegen liegen sie zueinander versetzt.

Für die Kontraktionsunterschiede macht GANSLER Flüssigkeitsverschiebungen zwischen Extra- und Intrazellulärraum verantwortlich. Die rhythmische Aktivität beruht nach ihrer Meinung auf einer Sol- Gel -Transformation, verbunden mit einem scherenartigen Verstellmechanismus der einzelnen Muskelzellen.

Auch andere Autoren beschreiben dicht gepackt liegende 40-80 Å dünne Filamente, die parallel zur Längsachse der Muskelzelle angeordnet sind, konnten aber nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich dabei nur um Actin- oder vielleicht auch um Myosinfilamente handelt.

Erst ELLIOTT (1964) identifizierte sie mit Hilfe des Röntgenbeugungsdiagrammes eindeutig als Actinfilamente. Die Anwesenheit des Myosin wurde biochemisch nachgewiesen, und zwar liegen nach NEEDHAM und WILLIAMS (1963) Actin und Myosin im gleichen Verhältnis 1:4 wie im quergestreiften Muskel vor. In den glatten Muskelzellen schien sich daher zunächst das Myosin sowohl dem Nachweis durch Röntgenbeugung wie der Elektronenmikroskopie zu entziehen.

CHOI (1962) gelang es, einen zweiten Filamenttyp aufzuzeigen, doch galt dies nur für seine Arbeiten am Hühnermagen. Bei der Reproduktion dieser Befunde auf andere Objekte blieb er erfolglos.

SHOENBERG (1963, 1966) fand in einigen ihrer kontrahierten Präparate von taenia coli des Meerschweinchens und von Kaninchenuterus ähnliche Filamente, die aber keinerlei Ordnung erkennen ließen. Es wurde in Betracht gezogen, daß diese dickeren und kontrastreicheren Filamente den lang gesuchten Myosinfilamenten entsprächen.

Doch war ihre geringe Zahl nicht mit den biochemischen Ergebnissen in Einklang zu bringen, die für Actin und Myosin im glatten Muskel ein Verhältnis von 1:4 herausgefunden hatten (NEEDHAM u. WILLIAMS 1963). Diese offensichtliche Diskrepanz zwischen dem "in vivo" nachgewiesenem Myosin und dem Fehlen einer sicheren, morphologischen Grundlage galt es zu überwinden.

SHOENBERG et al. (1966) konnten auch in einer neuen Arbeit weder im kontrahierten noch im erschlafften Muskel unter verschiedenen Versuchsanordnungen dicke Filamente beobachten. Aber sie fanden neben den dünnen $60-80 \text{ \AA}$ Filamenten in einigen Arealen der erschlafften Muskelpräparate dicht gepackt liegende, kurze Strukturen mit einer zwischen 200 und $600 \text{ \AA}$ variierenden Länge, und einer in etwa gleichbleibenden Breite von $20-40 \text{ \AA}$. Doch obwohl ihnen der Nachweis von Myosin entsprechenden Filamenten mißlang, schließen sie einen Gleitfilamentmechanismus, vielleicht mit einer Aggregation des Myosins während der Kontraktion oder einer Vernetzung kleiner Myosineinheiten mit den Actinfilamenten, noch nicht aus.

Auch PANNER u. HONIG (1967, 1970) suchten vergebens nach dicken Filamenten. Sie finden in ihren Gewebsschnitten vom Trutzhahnmagen bei unterschiedlicher Bearbeitung und unabhängig vom Funktionszustand des Muskels dünne $50-80 \text{ \AA}$ Filamente, die untereinander einen Abstand von $110-120 \text{ \AA}$ haben, außerdem noch feinere $15-30 \text{ \AA}$ Filamente. Diese liegen entweder frei oder paarweise an je eine Seite eines dünnen Filaments gebunden, und zwar in einem spitzen Winkel zu diesem, so daß sie das Bild einer Pfeilspitze bieten. An der Verbindungsstelle beträgt der Durchmesser $20-30 \text{ \AA}$, an ihrem Ende etwa $15 \text{ \AA}$, zwischen Kopf- und Schwanzteil scheint der Zusammenhang unterbrochen. Ferner beschreiben sie parallel zur Längsachse der Zelle angeordnete Ver-

dichtungskörper ($l = 3 \mu$; $d = 0,2-0,5 \mu$), die sie mit den Z-Streifen der Skelettmuskulatur analog setzen. Ähnliche Verdichtungskörper liegen auch an der Zellmembran.

Die feineren Filamente halten PANNER und HONIG für Myosin-mono- oder dimere. Nach ihrer Meinung liegt das Myosin sowohl im erschlafften, als auch im kontrahierten Muskel als Di- oder Tetramer vor, also nicht in polymerisierter Form. Auf Grund ihrer Ergebnisse entwickelten sie folgende Vorstellung über den Kontraktionsmechanismus der glatten Vertebratenmuskulatur: gegensinnig angeordnete Actinfilamente gleiten ineinander, wobei zahlreiche Myosindi- oder tetramere die treibende Kraft darstellen.

KELLY u. RICE (1968, 1969) untersuchten taenia coli des Meer-schweinchens und Hühnermagen und fanden erstmals in den kontrahierten glatten Muskelzellen neben den dünnen $60-80 \text{ \AA}$ Filamenten in regelmäßiger Anordnung dicke $150-190 \text{ \AA}$ Filamente. Beide verlaufen parallel zur Zellachse und lassen im Querschnitt eine rosettenförmige Anordnung erkennen. Die dicken Filamente sind von einem hellen Hof umgeben, der Abstand zwischen dicken und dünnen Filamenten beträgt etwa $260 \text{ \AA}$. In den selben Querschnitten finden sie aber auch einige Zellen, die nur dünne Filamente enthalten. Im erschlafften Muskel beobachteten sie nur dünne $60-80 \text{ \AA}$ Filamente. Sie geben weitere morphologische Kriterien zur Unterscheidung von kontrahierten und erschlafften Muskelzellen an: in der erschlafften Muskelzelle liegt der längsovale Kern mit Doppelmembran und gleichmäßig verteilten Chromatingranula parallel zur Zellachse. Mitochondrien und glattes, endoplasmatisches Retikulum liegen vorwiegend perinukleär. Das Sarkolemm ist glatt bis auf gelegentlich auftretende Vesikel. Die erschlaffte Muskelzelle zeigt insgesamt eine geringere optische Dichte als die kontrahierte. Die kontrahierte Zelle hat einen fusiformen Zellkern mit verklumtem

Chromatin. ihr Sarkolemm zeigt eine beträchtliche Anzahl von Ausstülpungen und aneinandergereihten Vesikeln, in deren Nähe vermehrt Mitochondrien zu finden sind. Eine auffallende Vermehrung von Vesikeln entlang der Zellmembran der kontrahierten Muskelzelle wurde auch von anderen Autoren hervorgehoben (GANSLER 1961, PROSSER et al. 1960, RHODIN 1962, KEYSERLINGK 1970). Es werden Vermutungen über einen eventuellen Zusammenhang mit dem Kontraktionsmechanismus angestellt. Ein longitudinales oder transversales System, wie es im quergestreiften Muskel vorliegt, konnte bisher am glatten Vertebratenmuskel nicht demonstriert werden.

KELLY u. RICE (1968, 1969), gestützt auf ihre Befunde, vertreten die Ansicht, daß das Myosin im glatten Muskel in einer niedrigeren Aggregationsstufe vorliegt und deshalb elektronenmikroskopisch nicht nachweisbar ist. Bei der Kontraktion komme es zur Polymerisation des disaggregierten Myosins und dieses reagiert dann mit dem Actin nach einer Art Gleitfilamentmechanismus.

KEYSERLINGK (1970, 1972) untersuchte glycerinextrahierte Muskelzellen und kam zu folgenden Befunden: Im erschlafften Muskel findet auch er zahlreiche dünne 50-80 Å Filamente, daneben aber einen neuen Filamenttyp, kontrastreicher und mit einem etwas größeren Durchmesser, aber immer noch unter 100 Å. Dazwischen feinere 20-30 Å Filamente, die mit den anderen in Verbindung zu stehen scheinen. In der kontrahierten Muskelzelle tritt ein regelmäßiges Muster von dünnen 50-80 Å Filamenten und dicken 150-200 Å Filamenten auf. Die dicken Filamente haben einen etwa konstanten Abstand von einander und sind von jeweils 6-8 dünnen Filamenten umgeben. In anderen Schnitten wieder finden sich nur dünne Filamente. Bei Superkontraktion schließlich verschieben sich die dicken Filamente zur Zellmitte hin, die dünnen bleiben anfangs noch an der Zellmembran haften, werden dann aber losgelöst und

ebenfalls in Richtung Zellmitte gezogen. Im Endstadium sieht man nur noch regellose Anhäufungen von dicken Filamenten perinukleär und darum herum vereinzelt dünne bis $30 \text{ \AA}$ Filamente, die er Residualfilamente nennt.

Nach KEYSERLINGK liegt das Myosin ebenfalls erst bei der Kontraktion in polymerisierter Form vor. Auch er denkt an einen Gleitfilamentmechanismus von Actin- und Myosinfilamenten, wobei er die kontrastreichen bis $100 \text{ \AA}$ Filamente als Ausgangspunkt für die Polymerisation des Myosin betrachtet. Die dünnen Filamente dagegen depolymerisieren nach seiner Ansicht vom F-Actin zum freien G-Actin und entziehen sich damit, zumindest bei den von ihm verwendeten Behandlungsmethoden, dem elektronenmikroskopischen Nachweis.

Nach HEUMANN (1971) liegen in den erschlafften Muskelzellen des Dünndarms der Hausmaus neben den schon bekannten dünnen $60\text{--}70 \text{ \AA}$ Filamenten auch die dicken $130 \text{ \AA}$ Filamente vor. Die dünnen Filamente zeigen eine regelmäßige, nach Fixierung mit Glutaraldehyd und Osmiumsäure sogar fast hexagonale Anordnung und sind zu unterschiedlich großen Filamentbündeln zusammengefaßt. Zwischen diesen Filamentbündeln liegen vereinzelt die dicken $130 \text{ \AA}$ Filamente. Im kontrahierten Muskel liegen dünne $60\text{--}70 \text{ \AA}$ Filamente und dicke $130\text{--}150 \text{ \AA}$ Filamente ohne erkennbare Ordnung dicht gepackt beieinander, bei Auszählung kommen 10-14 dünne Filamente auf ein dickes Filament.

HEUMANN findet demnach sowohl in kontrahierten als auch in erschlafften Muskelzellen dicke Filamente, seiner Meinung nach polymerisiertes Myosin. Frühere Mißerfolge, diesen Filamenttyp im erschlafften Muskel nachzuweisen, führt er auf die Labilität des Myosins und die damit verbundenen präparativen Schwierigkeiten zurück. Auch den Nachweis einer hexagonalen Anordnung

der Filamente macht er von der Präparationsmethode abhängig. Für den Kontraktionsmechanismus nimmt er ein System aus ineinandergreifenden Bündeln mit jeweils nur dünnen oder dicken Filamenten an, die in der Längsachse der Zelle gegeneinander versetzt sind. Dies würde das Auftreten separater Areale mit dünnen und dicken Filamenten in den Querschnitten erzeugen. Bei einer Kontraktion sollen sich diese Filamentbündel nach einem Gleitfilamentmechanismus tiefer ineinander schieben und nun im Querschnitt ein einheitliches Bild von vermischten dünnen und dicken Filamenten bieten.

LOWY u. SMALL (1970) finden in ihren Präparaten von taenia coli des Meerschweinchens im erschlafften Zustand in der Kultur bandähnliche Strukturen (ribbons) ($l = 200-1100 \text{ \AA}$; $d = 80 \text{ \AA}$), die von einem hellen, etwa $140 \text{ \AA}$ breitem Hof umgeben sind. Dazwischen liegen $30-65 \text{ \AA}$ Filamente, die in kleinen regelmäßigen Gruppen angeordnet sind und untereinander einen Abstand von $100 \text{ \AA}$ haben. Auf Längsschnitten sieht man die parallele Anordnung sowohl der dünnen als auch der geschwungenen Filamente zur Längsachse der Zelle. Ferner beschreiben sie Verdichtungskörper und runde $60-80 \text{ \AA}$ Filamente, die in einer Reihe angeordnet sind.

Die dicken, geschwungenen Filamente halten sie für Myosin, die Verdichtungskörper und kleineren runden Filamente für dessen niedrigeren Aggregationsstufen. LOWY u. SMALL bestätigen also die Anwesenheit polymerisierten Myosins in der Erschlaffungsphase glatter Muskelzellen, doch liegt es nach ihrer Ansicht in einer besonderen Form vor. Der Gedanke an einen Gleitfilamentmechanismus ist naheliegend. Für ihr Modell fordern sie eine dreidimensionale Anordnung des kontraktiven Apparates.

SOMLYO (1973) beschreibt in seiner Arbeit dünne 50-70 Å Filamente und dicke 180 Å Filamente regelmäßiger Anordnung sowohl in kontrahierten als auch in erschlafften, in gedehnten und ungedehnten glatten Muskelzellen. Er tritt für einen der quergestreiften Muskulatur entsprechenden Gleitfilamentmechanismus ein. Anders lautende Befunde führt er auf unzureichende Versuchsanordnungen oder Fixierungsmethoden zurück.

Daneben wird von ihm und einigen anderen Autoren aber noch ein dritter Filamenttyp mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 100 Å neben den dünnen Actin- und den dicken Myosinfilamenten beschrieben.

UEHARA et al. (1971) fanden ihn zunächst in Kulturen glatter Muskelzellen, später auch in heranwachsenden und erwachsenen glatten Muskeln verschiedener Vertebraten. Insbesondere FAY u. COOKE (1973) haben gezeigt, daß die 100 Å Filamente auch bei hoher Ionenstärke im Gegensatz zum Actin und Myosin nicht löslich sind. Diese Filamente bleiben unter verschiedenen Fixierungsverfahren im Gegensatz zu den dicken und dünnen Filamenten immer erhalten, und sie zeigen eine räumliche Beziehung zu den Verdichtungskörpern. (UEHARA et al. 1971, COOKE u. CHASE 1971, FAY u. COOKE 1973). Spekulationen über Zusammensetzung und Funktion erscheinen den meisten Autoren aber noch verfrüht.

Fast alle Autoren neigen zur Annahme eines Gleitfilamentmechanismus auch für die glatte Muskulatur. Doch vertritt jeder auf Grund seiner Befunde seine eigene, entschiedene Meinung über den genaueren Ablauf des Kontraktionsmechanismus. Man muß sich fragen, wie es zu so unterschiedlichen Befunden kommen kann. Ein Grund dafür ist sicherlich in den jeweils gewählten Versuchsobjekten selbst zu suchen. Denn bisher ist fast nichts über strukturelle Unterschiede der glatten Vertebratenmuskeln,

die sowohl von Organ zu Organ, als auch zwischen den verschiedenen Spezies bestehen dürften, bekannt. Auch eine elektrophysiologische Einteilung wurde bisher von Seiten der Morphologen vielleicht zu wenig berücksichtigt. Sie wurde von BOZLER (1948) zuerst formuliert. Es wird unterschieden zwischen einem "single unit" Typ, dazu gehören der Uterus, taenia coli und übrige Darmmuskulatur, Mesenterialarterien und Vena portae. Dieser Typ ist charakterisiert durch 1. spontane mechanische Aktivität, 2. spontane Aktionspotentiale ("spikes"), 3. relativ geringe Innervation und 4. häufige Nexusbildung für eine gute Erregungsfortleitung von Zelle zu Zelle.

Demgegenüber steht der "multi unit" Typ, dazu gehören die meisten Blutgefäße mit Ausnahme der oben genannten, Aorta, Aa. pulmonales, und caroticae, die glatten Muskelzellen der Luftwege und des ductus deferens. Charakteristisch für diesen Typ ist: 1. die fehlende spontane, mechanische Aktivität, 2. keine spontanen Aktionspotentiale oder "spikes", graduierte Depolarisation führt zu graduierter Kontraktion, und 3. reichliche nervöse Versorgung und sehr geringe Nexusbildung. (LANE u. RHODIN 1964, KEYSERLINGK 1972).

Der von uns untersuchte Dünndarm der Maus gehört dem "single unit" Typ, auch visceraler Typ genannt, an. Bei der Suche nach einer Erklärung für die unterschiedlichen Befunde sind aber noch mehr Gesichtspunkte zu berücksichtigen.

Von großer Bedeutung scheinen die Einflüsse auf das Muskelgewebe bei der Entnahme aus dem Organismus, die kaum zu vermeidende Temperaturänderung, die mechanische Manipulation und wohl auch die Verletzung des Gewebes zu sein. SHOENBERG (1972) wies bei ihren Versuchen an taenia coli erwachsener Meerschweinchen eine Änderung im Aussehen der

dicken Filamente bei der Abkühlung der lebenden Muskulatur vor der Fixierung nach.

In diesem Sinne müssen wohl auch die Befunde von LOWY und SMALL (1970), die bis zur Fixierung bei 0° C arbeiteten, sehr kritisch betrachtet werden. Aber auch die mechanische Manipulation kann Anlaß zu Änderungen sein, die sich einer genauen Definition entziehen. Es zeigte sich, daß der glatte Muskel auf Dehnung mit einer Abnahme des plastischen Tonus reagiert. Seine Wiederherstellung und die Beseitigung der Nachwirkungserscheinungen ist nur unter besonderen Versuchsanordnungen möglich. (GREVEN 1950 b, GREVEN u. SIEGLITZ 1951) So traten auch elektronenmikroskopisch vermehrt Verdichtungskörper auf, wenn die Muskelpräparate vor der Fixierung torquiert wurden. (KEYSERLINGK 1972)

Neben diesen unbeabsichtigten, mechanischen Einwirkungen sind besonders an die experimentell erzeugten Funktionszustände wie Kontraktion und Erschlaffung strenge Maßstäbe anzusetzen. Es scheint unzulässig, daß ein bestimmter Funktionszustand schon dann angenommen wird, wenn das Präparat lediglich mit dem entsprechenden Pharmakon inkubiert wird. Das Schreiben eines Mechanogramms ist unerlässlich, wie auch unsere Vorversuche gezeigt haben.

Bei unseren Versuchen bemühten wir uns vor allen Dingen darum, die aufgezeigten Einflüsse zu standardisieren und den Muskel in einen definierten, reproduzierbaren Funktionszustand zu bringen, um auf diese Weise allgemein gültige Kriterien für weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen zu schaffen. Diese Forderung nach weitgehender Standardisierung ist nach unserer Ansicht am besten bei "in vitro" Versuchen am überlebenden Muskel bei konstanter Belastung und konstanter Temperatur zu verwirklichen.

Des weiteren ist die Registrierung des jeweiligen Funktionszustandes und des gesamten zeitlichen Ablaufes erforderlich, wir verwendeten dazu ein Kymographion. Besonders wichtig ist dabei die Registrierung der Fixierung, um zu verhindern, daß die Fixierung selbst wieder einen nicht definierbaren Einfluß auf das Gewebe nimmt. Zur Erzeugung bestimmter Funktionszustände müssen möglichst verschiedene Pharmaka verwendet werden. Die Reversibilität des durch ein Pharmakon erzeugten Funktionszustandes muß nachgewiesen werden. Nur bei der Einhaltung dieser Versuchsbedingungen hat man eine gewisse Gewähr, daß die auf diese Weise gewonnenen Befunde untereinander vergleichbar sind. Rückschlüsse auf die Verhältnisse "in vivo" sind natürlich wieder mit der oben genannten Unsicherheit belastet, doch sind mit dieser Unsicherheit auch alle von den Physiologen durchgeführten "in vitro" Versuche versehen.

Als weiterer Gesichtspunkt muß an die besonderen biochemischen Eigenschaften des funktionell wichtigsten Proteins des glatten Muskels, das Actomyosin, gedacht werden. Im Gegensatz zum Actomyosin in der quergestreiften Muskulatur ist das der glatten Wirbeltiermuskulatur schon bei niedriger Ionenstärke (entsprechend 0,05 M KCL), wie es etwa in der Zelle vorliegt, leicht löslich. Es ist daher zu erwarten, daß das Actomyosin sehr fixierungs-labil ist. (SCHIRMER 1965)

Doch selbst die mechanische Registrierung der Muskelaktivität allein reicht im Grunde genommen nicht aus, wirklich vergleichbare Werte zu bekommen. Da nämlich die spontane Aktivität des glatten Vertebratenmuskels eine vollständige Erschlaffung verhindert, ist es nicht möglich, seine Ruhelänge zu definieren oder Präparate gleicher Ausgangslänge zu erhalten. Von der Ausgangslänge aber und der Belastung hängt das Ausmaß der Dehnung ab. Um nun die grundlegende Frage nach dem Zusammenhang von

Ultrastruktur und Ausmaß der Dehnung beantworten zu können, muß man versuchen, die Dehnung unabhängig von der Ausgangslänge zu definieren. Die Physiologen helfen sich aus diesen Schwierigkeiten, indem sie der Dehnung als Bezugsgröße nicht die Längen- sondern die Querschnittsänderung zu Grunde legen. Den Querschnitt des Präparates gewinnen sie aus den leicht meßbaren Größen Gewicht und Länge, bzw. Längenänderung: Naßgewicht (mg)/Länge (mm) (W/L ratio). Sie setzen Gewicht statt Volumen, gleiche Dichte vorausgesetzt. ($V_{xd} = G$) (BUELBRING u. KURIYAMA 1963 b). Diese indirekte Methode verlangt aber, daß die einzelnen Muskelgewebe und Muskelzellen homogen und gleichwertig sind, was jedoch nicht der Fall zu sein braucht und nach unseren Untersuchungen tatsächlich auch nicht immer zutrifft.

II. Fragestellung

Wir gehen nun der Frage nach, ob "in vitro" erzeugte Funktionszustände soweit wie möglich definiert und standardisiert werden können, ob es elektronenmikroskopische Unterschiede gibt und wenn ja, ob daraus Rückschlüsse auf den Kontraktionsmechanismus möglich sind.

B. MATERIAL UND METHODE

=====

Die Untersuchungen wurden an Mäusen des Stammes NMRI durchgeführt. Vom Dünndarm der Mäuse wurde in Abdominalschnitt nach Äthernarkose ein etwa 1cm langer Abschnitt herauspräpariert, mit Hilfe zweier Stahlklemmen zwischen einem feststehenden und einem vertikal um seine Achse schwenkbaren Stahlarm eingespannt und sofort in vorgewärmte Nährlösung (modifizierte Krebslösung nach BUELBRING u. GOLENHOFEN 1967) eingebracht. Durch Aufhängen von Gewichten wurde der Hebelarm in die Waagerechte gebracht

und der eingespannte Muskel belastet. Die Ausschläge des Hebelarmes wurden durch elektrischen Kontakt auf eine mit Aluminiumfolie bespannte Trommel, die mit einer bestimmten Geschwindigkeit rotierte, übertragen. Der so aufgehängte Muskel befand sich in einem Gefäß, das mit Gas durchperlt wurde und mit verschiedenen Flüssigkeiten durchspült werden konnte. Außerdem wurde für eine konstante Temperatur der Badflüssigkeit gesorgt. (Apparatur nach Magnus zur Registrierung isometrischer Muskelkontraktion).

Zur Erzeugung der Kontraktionsstadien wurden Acetylcholin der Firma Merck (Endkonzentration $10 \mu\text{g/ml}$) und K Cl (Endkonzentration 40mVal/ml) verwendet, für die Erschlaffungsstadien Adrenalin der Firma Hoechst (Endkonzentration $100 \mu\text{g/ml}$) und Ätherdämpfe.

Die Muskelpräparate wurden im Stadium der Kontraktion bzw. der Erschlaffung mit 5%igem Glutaraldehyd in $1/10 \text{ M}$ Cacodylatpuffer, bzw. Glutaraldehyd-formaldehydmischfixierung nach Karnowsky fixiert. Bei den Versuchen mit K Cl war die Fixierlösung zusätzlich mit 40mVal K Cl eingestellt.

Nach 10-15 Minuten wurden die Dünndarmabschnitte in kleine Ringe geschnitten und noch $1 \frac{1}{2}$ - 2 Stunden bei Raumtemperatur weiterfixiert. Dann wurden sie 30 Minuten lang in $1/10 \text{ M}$ Cacodylatpuffer gewaschen und 1 Std. 30 Min. mit 1%iger Osmiumsäure in $1/10 \text{ M}$ Cacodylatpuffer (pH 7,4) nachfixiert. Nach Auswaschen in physiologischer Kochsalzlösung und Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Micropal (Ferak, Berlin). Mit dem LKB Ultratom wurden die Schnitte angefertigt, mit Uranylacetat und Bleicitrat wurden sie nachkontrastiert. Die Aufnahmen entstanden am Siemens Elmiskop I a bei einer Strahlenspannung von 80 kV, die Papierabzüge zur Beurteilung wurden 3,5-fach vergrößert.

C. BEFUNDE
=====

I. Verhalten der Muskelpräparate "in vitro"

Vor der Beschreibung der Ultrastruktur der glatten Muskelzelle in den verschiedenen Funktionszuständen seien einige Bemerkungen vorausgeschickt. Die der elektronenmikroskopischen Untersuchung unterzogenen Präparate zeigten bei der Behandlung mit verschiedenen Pharmaka folgendes Verhalten: Die Stücke des Darmrohres kontrahierten sich sofort mit dem Herausschneiden. Nach dem Einhängen in die Registriervorrichtung löste sich diese Kontraktion langsam, und es begann eine sichtbare Peristaltik, die allerdings vom Schreiber nicht übertragen wurde, da sich die gesamte Länge des Darmrohres nicht veränderte. Kontraktion an einer Stelle wurde kompensiert durch Erschlaffung an anderer Stelle.

Bei allen folgenden Versuchen verblieben die jeweiligen Dünndarmabschnitte eine Zeitlang in der mit Nährlösung durchgespülten Apparatur, ehe die verschiedenen Pharmaka hinzugefügt wurden.

Bei Zugabe von Acetylcholin kontrahierten sich nun alle Darmabschnitte gleichzeitig, und es kam sofort zu einer, nur von einigen Erschlaffungsphasen unterbrochenen Kontraktion bis zu einer maximalen Verkürzung des Präparates, die auch durch weitere Gaben von Acetylcholinchlorid nicht gesteigert werden konnte. Die Peristaltik nahm dabei ständig ab, fiel aber nicht vollständig aus. Sowohl die Verkürzung des Präparates, als auch die Abnahme der Peristaltik konnten durch Auswaschen mit Nährlösung wieder aufgehoben werden. Bei Zugabe des Fixativs im kontrahierten Zustand fiel die Kurve nicht ab, das heißt also, daß die Fixierung des Muskels in kontrahiertem Zustand erfolgte.

Bei den Versuchen mit Kaliumchlorid kam es zu einer heftigen Kontraktion mit gleichzeitiger, deutlicher Abnahme der Peristaltik. Beide Vorgänge konnten auch hier durch Auswaschen mit Nährlösung rückgängig gemacht werden. Bei der Fixierung trat eine geringgradige Erschlaffung ein, die auch mit Zugabe von 40m Val K Cl in die Fixierlösung nicht verhindert werden konnte.

Zur Erzeugung von Erschlaffungszuständen wurden Suprarenin und Aether verwendet.

Die Zugabe von Suprarenin erbrachte eine langsam eintretende Erschlaffung, begleitet von einer kontinuierlichen Abnahme der Peristaltik. Bei der Fixierung kam es zu keiner sichtbaren oder meßbaren Veränderung, wie auch bei allen anderen Versuchen, mit Ausnahme der Kaliumkontraktion.

Wurden Aetherdämpfe in die das Darmstück umgebende Flüssigkeit eingeleitet, so reagierte das Muskelpräparat ebenfalls mit einer allmählich eintretenden Erschlaffung und der Abnahme der Peristaltik bis zu deren völligem Ausfall.

Als Kontrolle wurde noch ein "in vivo" Versuch durchgeführt, dabei wurde der Dünndarm bei der narkotisierten Maus vor dem Herausschneiden fixiert. (siehe Seiten 39 bis 43)

II. Elektronenmikroskopische Beurteilung der Ultrastruktur glatter Muskelzellen in verschiedenen Funktionszuständen.

Im Längsschnitt eine vergleichende Beurteilung des kontraktile Systems hinsichtlich seiner filamentären Zusammensetzung vorzunehmen, ist fast unmöglich, weil bei einer Schnittdicke von 500 Å immer mehrere Filamente und verschiedene Filamentar-

ten übereinander projiziert werden. Nur an einigen wenigen Stellen kann man den Durchmesser eines bestimmten Filamentes messen. Daher ist man auf die mühsame Erstellung sehr dünner und exakt getroffener Querschnitte angewiesen. Wenn die Achse eines Filamentes, das gestreckt und unverzweigt vorliegt, genau in Blickrichtung verläuft, kommt es zu keiner Übereinanderprojektion, und das Filament erscheint dann im Querschnittsbild als isolierter Punkt. Zu einer Übereinanderprojektion kommt es erst, wenn die Auslenkung aus der Blickrichtung so stark wird, daß sich die in den Schnitt ein- und austretenden Abschnitte benachbarter Filamente innerhalb der Schnittebene überlagern. Da benachbarte Filamente nur annähernd und nicht streng parallel zueinander verlaufen, kann man bei einem Querschnitt immer nur von einer größtmöglichen Anzahl der Filamente erwarten, daß sie genau quergetroffen sind, nie aber von allen Filamenten.

Die Ordnung des gesamten kontraktilen Systems, d.h. die Parallelität der Filamente zueinander, geht, wie auch die Schnittrichtung und die Einblicktiefe, im einzelnen nicht differenzierbar in das Bild ein. Doch die Hauptschwierigkeit liegt in den Verzweigungen, den Aneinanderlagerungen und Querbrüchen von Filamenten, die eine genaue Umgrenzung einer größeren Anzahl Filamente unmöglich machen. Dies muß bei der nun folgenden Beschreibung und Beurteilung der Schnittbilder berücksichtigt werden. Dennoch glauben wir uns dazu berechtigt, weil bis heute für die gewählte Fragestellung in diesem Molekularbereich keine bessere Untersuchungstechnik zur Verfügung steht.

Um unseren Bemühungen nach möglichst einheitlichem Untersuchungsgut gerecht zu werden, haben wir uns bei der elektronenmikroskopischen Beurteilung auf die Längsmuskulatur des Dünndarms beschränkt, zumal die Registrierung des Kymographions im wesentlichen die Tätigkeit der Längsmuskulatur wiedergibt. Außerdem

bringt es uns den Vorteil, eine Übersicht über die gesamte Wand der Längsmuskulatur zu erhalten und somit eventuelle regionäre Unterschiede erkennen zu können.

a) Erschlaffung mit Aetherdämpfen

Die durch Aetherdämpfe erschlafften Muskelzellen sind annähernd gleichgroß, meist von runder Gestalt und von einer leicht gewellten doppelten Zellmembran umgeben. Zur Mitte zu erscheinen sie etwas heller. Der runde, ebenfalls leicht gewellte Kern ist mit einem körnigen Material ausgefüllt, an die Kernmembran schließt sich von innen eine mehr oder weniger breite Schicht Chromatin an. In Zellen, in denen der Kern nicht getroffen ist, liegen die Mitochondrien dicht gehäuft im Zentrum; vereinzelt sind sie auch in der Peripherie und unter der Zellmembran zu finden.

In diesen Zellen sind nun drei Filamentarten zu erkennen, die sich hinsichtlich ihrer Größe und ihrer elektronischen Dichte deutlich voneinander unterscheiden (Abb 1).

Die erste Gruppe bilden die sogenannten dicken Filamente. Diese dicken und sehr kontrastreichen Filamente zeigen im Gegensatz zu den anderen keine einheitliche Gestalt, ihr Querschnittsbild ist vielmehr polymorph. Sie können länglich sein mit beidseitig spitz auslaufenden Zipfeln, sie können drei- oder mehrkernig sein, oder sie sind ringsum mit einer verschiedenen Anzahl mehr oder minder kurzer Ausläufer versehen. In einzelnen Fällen sind sie auch von annähernd runder Gestalt. Aus dieser Polymorphie ergibt sich für den Durchmesser dieser Filamente, je nach Richtung der Messung eine große Schwankungsbreite von 120-200 $\text{\AA}$. Die dicken Filamente sind in jeder Muskelzelle in großer Anzahl vorhanden, sie liegen, mit Ausnahme der filamentfreien Areale,

über die ganze Zelle verteilt mit einem annähernd gleichbleibenden Abstand von $300 \text{ \AA}$ zueinander.

Die zweite Filamentart ist gleichfalls an mehreren Merkmalen deutlich von den übrigen zu unterscheiden. Sie sind kreisförmig und stark kontrastreich, oft sogar noch von einem kleinen, hellen Hof umgeben. Ihr Durchmesser ist relativ konstant und beträgt $100 \text{ \AA}$, der Durchmesser des umgebenden Hofes $0,3 \text{ mm}$ ($22 \times 3 \frac{1}{2}$). Mehr Schwierigkeiten bereitet eine Aussage über die Verteilung dieser $100 \text{ \AA}$ Filamente. Man findet sie zu kleineren oder größeren Gruppen angeordnet meistens im Zentrum der Zelle in unmittelbarer Nähe der Mitochondrien oder in der Peripherie dicht unter der Zellmembran. Nur selten sind sie einzeln anzutreffen. In den Zentren einiger Muskelzellen gibt es auch Areale, in denen nur diese $100 \text{ \AA}$ Filamente locker verteilt liegen. Sie zeigen in ihrem Verlauf also keinen direkten Zusammenhang mit den anderen Filamenten, was auf eine gewisse Selbstständigkeit dieses Filamentsystems hinweisen könnte.

Als dritte Filamentart sind noch die sogenannten dünnen Filamente zu erwähnen. Sie haben einen Durchmesser von $50\text{-}80 \text{ \AA}$ und lassen im Querschnitt ebenfalls runde Konturen erkennen. Ihre elektronische Dichte ist allerdings viel geringer als die der übrigen Filamente, sie heben sich daher nicht so gut von ihrer Umgebung ab.

Dünne und dicke Filamente treten unter diesen Versuchsbedingungen in allen Muskelzellen nur gemeinsam auf. Dabei erscheinen sie miteinander über querverlaufende Filamente in Verbindung zu stehen, und zwar sowohl die dicken und dünnen Filamente jeweils untereinander, als auch die dicken mit den dünnen Filamenten. Die dicken Filamente haben, wie schon oben erwähnt, einen Abstand von $300 \text{ \AA}$ zueinander, während die dünnen regellos zwischen diesen verteilt

zu liegen scheinen. Nur an einigen wenigen Stellen liegen dünne Filamente unbestimmter Anzahl kreisförmig um ein dickes Filament, wobei jedes dünne Filament sowohl mit dem dicken, als auch mit den zwei benachbarten dünnen Filamenten über je ein querverlaufendes Filament in Verbindung zu stehen scheint.

Der Raum zwischen den Filamenten ist mit querverlaufenden, filamentärem Material einerseits und einer amorph erscheinenden Substanz wechselnder elektronischer Dichte andererseits ausgefüllt. Lokale Vermehrungen dieser amorphen interfilamentären Substanz bilden kleine Verdichtungskörper ungleicher Gestalt und Verteilung, die überall im kontraktilen Material wie auch direkt unter der Zellmembran zu finden sind. Innerhalb, oder auch in unmittelbarer Nähe einiger Verdichtungskörper liegen kleinere Gruppen von $100 \text{ \AA}$ Filamenten.

An den von Randverdichtungen freien Stellen der Zellmembran befinden sich die suprasmalemmalen Vesikel. Sie sind von einer Doppelmembran umgeben und unterschiedlich groß. Diese Größenunterschiede sind besonders bei den frei im Innern der Zelle liegenden Vesikeln auffallend, ihr Durchmesser kann bis zu 11 mm ($22 \times 3 \frac{1}{2}$) betragen, sie haben dabei ein annähernd rundes Aussehen. Die unter der Zellmembran liegenden Vesikeln sind zum Teil tropfenförmig und haben einen Durchmesser von $4,5-9,5 \text{ mm}$ ($22 \times 3 \frac{1}{2}$). Die runden Vesikel, die dicht unter der Zellmembran liegen, berühren diese teilweise, wobei die Zellmembran an der Kontaktstelle leicht nach innen gewölbt erscheint. An anderen Stellen ist die Zellmembran deutlich nach innen gewölbt und bildet für den hier tropfenförmigen Vesikel die einzig trennende Schicht zum Interzellularraum. Bei einem Teil der tropfenförmigen Vesikel schließlich ist diese trennende Membran in der Mitte unterbrochen oder fehlt vollkommen, so daß diese Vesikel mit dem Interzellularraum in direkter Verbindung stehen (Abb. 2).

Die Vesikel liegen meist in 2, 3 oder 4er Gruppen dicht nebeneinander aufgereiht an der Zellmembran, sie sind von einem hellen Hof umgeben.

Zwischen den Vesikeln, ebenfalls an den von Randverdichtungen freien Stellen, treten Schläuche des endoplasmatischen Reticulums mit einer kolbenförmigen Erweiterung (Abb. 3) des Endabschnittes ganz dicht an die Zellmembran heran. In unmittelbarer Nähe des Plasmalemmas verlieren sie ihren Ribosomenbesatz. Andererseits treten sie, entweder mit einer kolbenartigen Erweiterung oder mit ihrer Längsseite, dicht an die Mitochondrien heran. Unter günstigen Bedingungen kann man einen derartigen Schlauch des endoplasmatischen Reticulums von der Zellmembran direkt bis zu einem Mitochondrium verfolgen (Abb. 4). Ebenso können sie aber auch zwischen zwei Mitochondrien verlaufen, wobei sie an dem einen mit der kolbenartigen Erweiterung, an dem anderen mit ihrer Längsseite ansetzen (Abb. 5).

Die Mitochondrien selbst liegen in den Zellarealen, die frei von kontraktilen Material sind. Sie haben unter den gegebenen Versuchsbedingungen einen deutlichen Abstand zueinander. Ihre Querschnittskonturen sind überwiegend rund, so daß man für sie eine Orientierung in der Längsrichtung der Muskelzelle annehmen kann. Im allgemeinen weisen sie keine Schädigungszeichen auf. Nur einige, am äußeren Rand des Präparates gelegene Mitochondrien sind zum Teil geschwollen. Allerdings nur an den Stellen, an denen das Peritonealepithel abgehoben ist. Ansonsten sind auch am Rand keine weiteren Schädigungszeichen zu beobachten.

In den Arealen mit den Mitochondrien sind auch Hohlräume des endoplasmatischen Reticulums und freie Ribosomen zu finden.

Außerdem ziehen durch diese Areale, und zwar dicht an den Mitochondrien und der Kernmembran, die Microtubuli. Sie haben einen Durchmesser von 1,8 μ m ($22 \times 3 \frac{1}{2}$) und werden von einem großen, hellen Hof umgeben.

b) Erschlaffung mit Suprarenin

Nach der Erschlaffung mit Suprarenin haben die Muskelzellen länglich bis rhomboide Gestalt, sie liegen dicht beieinander, ihr Zellkern ist ebenfalls länglich. Sie sind von gleichbleibender elektronischer Dichte, die Mitochondrien liegen entweder gehäuft im Zentrum oder über den gesamten Zellquerschnitt verteilt. Das kontraktile Material bietet nicht in allen Zellen das gleiche Aussehen. Wohl findet man sehr häufig alle drei Filamentarten: die dicken 120-180 $\text{\AA}$ -Filamente mit ihrer schon oben beschriebenen unregelmäßigen Gestalt und ihrer starken elektronischen Dichte, die ebenfalls kontrastreichen 100 $\text{\AA}$ -Filamente und auch die dünnen 50-80 $\text{\AA}$ -Filamente, die zwar bedeutend kontrastärmer, aber in größerer Anzahl vorliegen. Das regelmäßig angeordnete Muster der dicken Filamente tritt in solchen Querschnitten deutlich hervor. Auch findet man hier an einigen Stellen, wenn auch nur andeutungsweise, die kreisförmige Anordnung mehrerer dünner Filamente um je ein dickes mit querverlaufenden Filamenten als Zwischenstücken. Doch wird in allen Präparaten, sowohl bei den mit Glutaraldehyd als auch in denen nach Karnowsky fixierten, kontraktiles Material gefunden, in dem sich die kontrastreichen dicken Filamente nicht nachweisen lassen. Dies kann für das kontraktile Material eines gesamten Zellquerschnitts wie auch für einen Teil davon gelten. Nur die dünnen und die 100 $\text{\AA}$ Filamente bleiben stets unverändert erhalten. Auch die Verdichtungskörper sind überall zu finden, doch wechselt ihre Häufigkeit und besonders ihre Größe in den einzelnen Zellquerschnitten ganz erheblich. Die Befunde an den

Microtubuli, den Vesikeln, den Mitochondrien und dem endoplasmatischen Reticulum entsprechen den Beobachtungen bei dem durch Aether erzeugten Erschlaffungszustand. Auch hier scheinen Schläuche des endoplasmatischen Reticulums eine Verbindung zwischen Mitochondrien und Zellmembran, bzw. zwischen den Mitochondrien selbst herzustellen (Abb. 6, Abb. 7, Abb. 8). Keine dieser Zellen weist irgendwelche Schädigungszeichen oder eine charakteristische Lokalisation innerhalb der Darmwand auf.

c) Kontraktion mit Acetylcholin

Bei dem durch Acetylcholin induziertem Kontraktionszustand fallen schon bei den Übersichtsaufnahmen die sehr unterschiedlichen Kontraste und Größen der Muskelzellen auf. Die Zellwände benachbarter Zellen verlaufen annähernd parallel zueinander, sie sind oft recht bizarr konturiert und ineinander verzahnt. Auch die Zellkerne zeigen eine sehr unregelmäßige Gestalt. Diese Beobachtungen wurden wiederum an allen, auf diese Weise behandelten Präparaten und nach beiden Fixierungsmethoden gemacht. Zwischen den ganz dunklen und den sehr hellen Zellen scheint es eine graduelle Abstufung zu geben, außerdem scheinen die dunklen im allgemeinen kleiner zu sein als die hellen Muskelzellen (Abb. 9).

Als erstes fällt in den dunklen Zellen auf, daß das kontraktile Material im gesamten Zellquerschnitt zu finden ist und auch bis dicht an die Mitochondrien herantritt, es gibt hier also keine filamentfreien Areale. Deutlich treten die polymorphen und kontrastreichen dicken Filamente hervor. Ihr Durchmesser beträgt auch hier 120-200 Å, je nachdem in welcher Zellachse die Messung vorgenommen wurde, doch sind sie alle dichter zusammengedrückt, ihr Abstand untereinander beträgt nur noch 200 Å oder weniger. Gelegentlich kommt es sogar zu einer Verschmel-

zung mehrerer dicker Filamente, die dann bandähnliche Strukturen darstellen (Abb. 10). Das Material zwischen den dicken Filamenten ist derart verdichtet, daß nur selten bestimmte Strukturen sicher zu erkennen sind. Dies trifft sowohl für die dünnen, als auch für die 100 Å Filamente zu. Letztere lassen auch ihren Hof vermissen. Überall im kontraktilen Material liegen Verdichtungskörper, die sowohl in ihrer Gestalt, als auch in ihrer Ausdehnung und elektronischen Dichte sehr unterschiedlich sind. Sie liegen dichter beisammen als in den erschlafften Muskelzellen, meistens enthalten sie keine dicken Filamente. Bemerkenswert sind noch die Randverdichtungen, die hier besonders kontrastreich sind. Sie stehen mit den Verdichtungskörpern im Innern der Zelle in Verbindung. Außerdem sind die Stellen der Zellmembran, die mit Randverdichtungen versehen sind, tief ins Zellinnere eingestülpt und oft recht bizarr geformt. Zwischen diesen Einstülpungen liegen an den von Randverdichtungen freien Stellen der Zellmembran Vesikel und Mitochondrien. Die Vesikel sind in auffallend großer Zahl vorhanden, sie befinden sich hauptsächlich zu größeren Gruppen zusammengelagert dicht unter der Zellmembran, oder sie haben auf die oben beschriebene Weise Kontakt zu ihr, wobei sie dann wie auf einer Perlenschnur aufgereiht dicht nebeneinander liegen. Letztere Formation findet man oft als einzige Strukturen zwischen der Zellmembran und einem randständigen Mitochondrium, so daß es den Anschein hat, das Mitochondrium stehe mit der Zellmembran über diese Vesikel in Verbindung. Weitere Verbindungen der Mitochondrien mit der Zellmembran oder einzelner Mitochondrien untereinander scheinen auch hier wieder durch Schläuche des endoplasmatischen Reticulums gegeben zu sein, und zwar in der oben beschriebenen Weise. Die Mitochondrien selbst sind meistens nicht so glattrandig und rund wie in den erschlafften Muskelzellquerschnitten. Durch die dunkle Umgebung erscheinen sie relativ hell und

teilweise sind sie auch aufgequollen. Vielfach liegen sie zu Gruppen zusammen, dicht aneinander gepreßt. Allen Mitochondrien fehlt eine sie umgebende filamentfreie Zone. Microtubuli sind nur vereinzelt, meist in unmittelbarer Nähe der Mitochondrien, zu finden. Sie sind in dem kontrastreichen kontraktile Material nur schwer auszumachen, zumal der sie umgebende helle Hof bedeutend kleiner ist als in den erschlafften Muskelzellen (Abb. 10).

Ein ganz anderes Bild bieten die hellen Zellen des mit Acetylcholin kontrahierten Darmabschnittes. Schon in den Übersichtsaufnahmen kann man hellere und weniger helle Areale unterscheiden. Die Mitochondrien liegen nicht wie in den dunklen Zellen in einem dichten Haufen im Zentrum der Zelle, sondern weit verstreut über den gesamten Querschnitt.

Die polymorphen, dicken Filamente lassen keinerlei Ordnung erkennen, einmal liegen sie so dicht beieinander, daß ihre Ausläufer sich berühren, zwischen anderen messen wir Abstände bis zu 5 μ m (bei $20 \times 3 \frac{1}{2}$). Sie sind vorwiegend in den helleren Arealen des Zellinneren zu finden, in der meist dunkleren Randzone treten sie nur vereinzelt auf. Genau umgekehrt verhält es sich mit den dünnen Filamenten. Sie sind zwischen den dicken Filamenten nicht regelmäßig nachzuweisen, in der Randzone dagegen sind sie in großer Anzahl vorhanden. Doch sie lassen nirgends eine bestimmte Anordnung erkennen. Der Raum zwischen den dünnen und dicken Filamenten ist mit einer amorphen Substanz und querverlaufenden Filamenten angefüllt. Die 100 $\text{\AA}$ Filamente sind zu mehr oder weniger großen Bündeln zusammengefaßt und überall im Zellquerschnitt zu finden. Viele dieser 100 $\text{\AA}$ Filamente liegen dicht beieinander und bilden bandähnliche Strukturen. Die einzeln liegenden 100 $\text{\AA}$ Filamente sind von einem hellen Hof umgeben. Auch Verdichtungskörper unterschiedlicher

Größe und Gestalt sind in den hellen Zellen in großer Menge zu finden, doch scheinen sie hauptsächlich peripher in den dunkleren Arealen zu liegen. Vielfach stehen sie untereinander und mit den Randverdichtungen in Verbindung. Auffallend ist, daß in den helleren Arealen, in denen zwar die dicken Filamente vorhanden, die dünnen aber nur schwer nachzuweisen sind, auch bedeutend weniger Verdichtungskörper zu finden sind (Abb. 11). Die Zellmembran, an der sich Randverdichtungen befinden, ist ebenso wie in den dunkleren Zellen nach innen eingestülpt. An den von Randverdichtungen freien Stellen der Zellmembran liegen Mitochondrien und große Ansammlungen von Vesikeln und zwar in der selben, schon oben für die dunklen Zellen beschriebenen Anordnung. Die Mitochondrien sind fast immer rund und weisen keine Schädigungszeichen auf. Sie liegen vorwiegend in den helleren Zellarealen, also zwischen den dicken und den querverlaufenden Filamenten, das kontraktile Material tritt bis dicht an die Mitochondrien heran. Vorwiegend in den helleren Zellarealen liegt auch das endoplasmatische Reticulum mit seinen teils ribosomenarmen, teils ribosomenfreien Schläuchen, die auch hier wieder Verbindungen zwischen einzelnen Mitochondrien und zwischen Mitochondrien und Zellmembran herzustellen scheinen. Microtubuli liegen in den hellen Zellen des mit Acetylcholin induzierten Kontraktionsstadiums in großer Zahl vor, sie sind von einem weiten, hellen Hof umgeben und hauptsächlich in der Nähe der Mitochondrien, des Zellkerns und des endoplasmatischen Reticulums zu finden (Abb. 12).

d) Kontraktion mit K Cl

Bei den Versuchen mit K Cl wurde zur Prüfung der Reversibilität der Vorgänge sofort nach erreichter maximaler Kontraktur fixiert, ein anderes Mal zunächst wieder gespült und dann, nach erneuter K Cl-Zugabe bis zum Erreichen desselben Kontraktionszustandes,

fixiert. Die im folgenden Abschnitt beschriebenen Befunde waren nach der zweimaligen Kaliumkontraktion stets deutlicher ausgeprägt und an mehr Zellen nachweisbar als bei den nach einmaliger Kontraktion fixierten Präparaten.

Auch bei der Kaliumkontraktur treten helle und dunkle Zellen auf, Zellen, in denen die Mitochondrien dicht gehäuft im Zentrum oder über den gesamten Querschnitt verstreut liegen. Die unterschiedlich gestalteten, aber annähernd gleich großen Muskelzellen liegen dicht zusammen. Die Zellmembran ist leicht gewellt und weist zum Teil tiefe Einstülpungen auf. Die Zellkerne sind annähernd rund und ebenfalls leicht gewellt (Abb. 13).

Für die dunklen Zellen ist die ziemlich gleichmäßige Verteilung der Filamente und der Verdichtungskörper über den gesamten Zellquerschnitt charakteristisch. Das kontraktile Material tritt auch bis dicht an die Mitochondrien heran. In den hellen Zellen kann man helle, vorwiegend zentral gelegene Areale von weniger hellen Randzonen unterscheiden, die Mitochondrien liegen hierbei in filamentfreien Arealen.

Die dicken Filamente der dunklen Zellen sind unterschiedlich weit voneinander entfernt, im allgemeinen beträgt der Abstand aber $200 \text{ \AA}$. Doch können sie auch so dicht zusammenliegen, daß sie einander berühren und auf diese Weise bandähnliche Strukturen bilden. Zwischen ihnen sind die $50\text{--}80 \text{ \AA}$ dünnen Filamente deutlicher zu erkennen als in den durch Acetylcholin kontrahierten Muskelzellen. An einigen wenigen Stellen erscheinen mehrere dünne Filamente kreisförmig um je ein dickes gelegen. Dazwischen befinden sich reichlich querverlaufende Filamente und amorph erscheinende Grundsubstanz. Die $100 \text{ \AA}$ -Filamente treten hier auch auf, meist in kleineren Grüppchen in Mitochondriennähe. Sie sind mit einem hellen Hof versehen. Die Befunde an den Vesi-

keln entsprechen denen der mit Acetylcholin kontrahierten Präparate, das endoplasmatische Reticulum ist nur spärlich vorhanden. Sehr deutlich sind die Microtubuli durch den sie umgebenden hellen Hof zu erkennen. Sie sind recht zahlreich und vorwiegend in Mitochondriennähe zu finden. Die Membran dieser dunklen Zellen ist relativ glattwandig und weist nur wenige Einstülpungen auf. Die zahlreichen Verdichtungskörper liegen nahe zusammen und stehen zum großen Teil untereinander in Verbindung.

Die hellen Zellen der Kaliumkontraktion zeigen große Ähnlichkeit mit den hellen Zellen nach Acetylcholincontraktion. In den mehr zentral gelegenen, hellen Arealen finden wir hauptsächlich dicke und querverlaufende Filamente, in den dunkleren Randzonen vorwiegend dünne Filamente und Verdichtungskörper. Die mit Randverdichtungen versehenen Stellen der Zellmembran sind nach innen eingestülpt, zwischen diesen Einstülpungen liegen die Vesikel. Bemerkenswert ist vielleicht noch, daß Schläuche des endoplasmatischen Reticulums einige Gruppen dieser randständigen Vesikel bogenförmig umschließen, jeweils rechts und links dieser Vesikelgruppe mit einem Ende des Schlauches dicht an die Zellmembran herantreten und auf diese Weise einen filamentfreien hellen Raum um die Vesikel gegen das Zellinnere abgrenzen.

Zwischen den Mitochondrien, die in einer filamentfreien Zone zu unterschiedlich großen Gruppen angeordnet liegen, erstreckt sich ein weit verzweigtes Netz von Schläuchen des endoplasmatischen Reticulums, die zum Teil mit Ribosomen besetzt sind, zum Teil liegen die Ribosomen auch frei im Zellinneren. In der Nähe der Mitochondrien und der Schläuche des endoplasmatischen Reticulums sieht man auffallend viele Microtubuli, die alle von einem hellen Hof umgeben sind (Abb. 14).

Einen besonders auffälligen Befund bieten Zellquerschnitte, in denen die kontraktilen Filamente ihre Orientierung in der Längsrichtung der Zelle verloren haben. Daß es sich dabei um exakte Querschnitte durch die Längsmuskulatur des Darmes handelt, ersieht man aus den Querschnittsbildern der benachbarten Zellen (Abb. 15). Interessanterweise liegt auch in diesen Zellen eine räumliche Dissoziation von dicken und dünnen Filamenten vor. Die im Zentrum dominierenden dicken Filamente sind zu einzelnen Zügen zusammengefaßt und verlaufen in alle Richtungen des Raumes. Zwischen ihnen sind deutlich quergetroffene, aber seltener längsverlaufende dünne Filamente nachweisbar. Im Randgebiet dagegen überwiegen die dünnen Filamente und die Verdichtungskörper. Das unmittelbar unter der Zellmembran liegende kontraktile Material ist jedoch auch in den nach zweimaliger Kaliumkontraktion fixierten Präparate quergetroffen, hat also seine Orientierung in der Längsrichtung der Zelle beibehalten. Dasselbe gilt auch für die $100 \text{ \AA}$ Filamente, auch von diesen sind nur quergetroffene zu finden. Die spindelförmigen, dicken Filamente liegen so dicht ineinandergeschoben, wie man es bei einem Längsschnitt unbehandelter Muskulatur niemals beobachten kann, deshalb nehmen wir an, daß es sich um superkontrahierte Zellen handelt.

Bei den nach einmaliger Kaliumkontraktion fixierten Präparaten finden wir Zellen, die kaum dicke Filamente aufweisen, dafür aber eine um so größere Anzahl von $100 \text{ \AA}$ Filamenten. In einigen Zellen dieser Art hat ein Teil der zentral gelegenen $100 \text{ \AA}$ Filamente ebenfalls die Orientierung in der Längsrichtung der Zelle verloren (Abb. 16, Abb. 17).

e) "in vivo" fixierte Muskelzellen

Die "in vivo" fixierten Muskelzellen zeigen schon in den Übersichtsaufnahmen etwa gleiche Größe und gleiche elektronische Dichte. Die meist runden Mitochondrien liegen entweder als Gruppe dicht zusammen im Zentrum der Zelle oder über den gesamten Zellquerschnitt verstreut.

Die polymorphen dicken Filamente nehmen das Querschnittsbild der ganzen Muskelzelle ein, ihr Abstand untereinander variiert jedoch erheblich. Auch die dazwischen liegenden dünnen Filamente lassen kein regelmäßiges Muster erkennen. Überall sind kleinere Gruppen von $100 \text{ \AA}$ Filamenten zu finden. Der Zwischenraum wird auch hier mit amorph erscheinender Grundsubstanz und reichlich querverlaufenden Filamenten ausgefüllt. Die kleinen Verdichtungskörper sind ebenfalls überall zu finden, sie stehen zum Teil untereinander oder mit den Randverdichtungen in Verbindung. Die mit Randverdichtungen versehenen Stellen der Zellmembran sind nach innen gewölbt, an den freien Stellen liegen Vesikel, Mitochondrien, Schläuche des endoplasmatischen Reticulums und freie Ribosomen. Sehr häufig findet man hier auch Microtubuli, die ansonsten noch im Zellinneren und in der näheren Umgebung der Mitochondrien und des endoplasmatischen Reticulums zu finden sind. Die Mitochondrien selbst liegen in filamentfreien hellen Arealen, der Raum zwischen ihnen ist nur mit Schläuchen des endoplasmatischen Reticulums, freien Ribosomen und Glykogenpartikeln durchsetzt. Im übrigen entsprechen die Befunde der Zellorganellen den oben beschriebenen Präparaten. In einigen "in vivo" fixierten Zellen kann man hellere Areale erkennen, in denen vermehrt $100 \text{ \AA}$ Filamente zu finden sind. Der sie umgebende helle Hof bedingt das hellere Aussehen dieser Bezirke (Abb. 18).

f) Unbehandelte "in vitro" fixierte Muskelzellen

Die nach 1 1/2 Stunden "in vitro" fixierten Präparate weisen in ihren Querschnittsbildern auf keine Schädigung hin. Zellkern und Mitochondrien sind gut erhalten. Es ergeben sich auch keine wesentlichen Befundänderungen. Die dicken und dünnen Filamente scheinen regellos über den gesamten Zellquerschnitt verteilt, dazwischen sind querverlaufende Filamente und vermehrt Grundsubstanz zu finden. Die ebenfalls reichlich vorhandenen 100 Å^o Filamente sind von einem hellen Hof umgeben. Kleine Verdichtungskörper, die teilweise untereinander in Verbindung stehen, liegen zwischen den Filamenten. Die mit Randverdichtungen versehenen Stellen der Zellmembran sind im allgemeinen nach innen gewölbt. An den Befunden der Vesikel hat sich nichts geändert, dasselbe gilt für die Schläuche des endoplasmatischen Reticulums und für die Mitochondrien, von denen einzelne Gruppen oft von einer scharf abgegrenzten Zone umgeben sind. In dieser hellen Zone sind vor allen Dingen die Microtubuli mit ihrem hellen Hof, Schläuche des endoplasmatischen Reticulums und freie Ribosomen zu finden, vielleicht auch einige Glykogengranula, doch können diese nicht mit Sicherheit bestimmt werden.

D. DISKUSSION

=====

Für unsere Untersuchungen hatten wir uns die Frage gestellt, ob es unter den gegebenen Versuchsbedingungen charakteristische elektronenmikroskopische Strukturkennzeichen für einzelne funktionelle Stadien gibt. Im folgenden sollen drei Punkte nacheinander betrachtet werden:

1. Veränderungen am filamentären kontraktilem System.
2. Veränderungen an den übrigen Zellbestandteilen.
3. Veränderungen der Zellquerschnitte.

Bei der Befundung des filamentären Materials fällt zunächst einmal auf, daß sich die sogenannten dicken Filamente der glatten Muskulatur deutlich von den Myosinfilamenten der quergestreiften Muskulatur unterscheiden. Nur vereinzelt weisen diese dicken, kontrastreichen Filamente wirklich runde Konturen auf. In der Regel sind sie vielmehr länglich mit spitz auslaufenden Zipfeln, drei- oder mehrkantig und mit mehr oder minder kurzen Ausläufern versehen. Charakteristisch ist also ihre sehr pylomorphe Gestalt. Da diese polymorphen, kontrastreichen Filamentquerschnitte aber in annähernd regelmäßiger Anordnung vorliegen, ist die von früheren Autoren (PANNER und HONIG 1967, 1970) vertretene Auffassung, es handle sich lediglich um etwas dicker ausgefallene dünne Filamente oder um seitlich miteinander verbackene dünne Filamente, nicht vertretbar. Die regelmäßige Anordnung läßt doch vermuten, daß diese Strukturen zumindest als Äquivalente für die Lokalisation des Myosins anzusehen sind. Die Frage, ob das Protein Myosin durch diese Filamente vollständig oder nur teilweise dargestellt wird, bleibt allerdings noch offen. Eine dritte Möglichkeit wäre es, diese Filamente nur als Leitstrukturen zu betrachten, denen das Myosin "in vivo" angelagert ist. Für die beiden letzten Möglichkeiten lassen sich verschiedene Beobachtungen anführen: Die anscheinend gesetzlose Polymorphie der Filamentquerschnitte legt den Gedanken an eine präparationsbedingte Schädigung nahe. Es sei darauf hingewiesen, daß diese kontrastreichen Filamente erst seit Einführung der Glutaraldehydfixierung nachgewiesen werden, bei Osmiumfixierung waren sie nicht zu sehen. Die rekonstruierten Myosinfilamente "in vitro" sind querschnittsrund (SHOENBERG 1968, 1969). Ebenfalls rund sind diese Filamente nach bestimmten experimentellen Bedingungen, so nach Glycerinextraktion und Kontraktion (KEYSERLINGK 1970) und nach vorausgehender Abkühlung des Gewebes (LOWY und SMALL 1970, PRINZ 1974). Die gerade aufgeführten Glycerinextraktionsversuche

wurden ebenso wie die vorliegenden Untersuchungen am Dünndarm der Maus durchgeführt, so daß hier keine organspezifischen Unterschiede zu berücksichtigen sind.

Schon vor mehreren Jahren haben NEEDHAM und SHOENBERG (1964) darauf hingewiesen, daß die kontrastreichen Filamente nicht das gesamte, nach biochemischen Untersuchungen zu erwartende Myosin enthalten können. Des weiteren hat SHOENBERG (1972) Berichte vorgelegt, nach denen Kältevorbehandlung dicke Filamente deutlich hervortreten läßt.

Die Polymorphie der Struktur und Variabilität in der Darstellbarkeit, auf die schon in der Einleitung hingewiesen wurde, sprechen also dafür, die polymorphen, kontrastreichen Filamente als inkomplette Myosindarstellungen anzusehen.

Die Abgrenzung der $100 \text{ \AA}$ Filamente erfolgte durch CAMPBELL et al. (1970), UEHARA et al. (1971), COOKE und CHASE (1971) und COOKE und FAY (1972). COOKE und CHASE (1971) konnten zeigen, daß die Löslichkeit dieser Filamente sich grundlegend von der der dünnen und dicken Myofilamente unterscheidet. Eine Zugehörigkeit zum Actomyosinkomplex kann daher mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Ferner wurde eine Beziehung dieser Filamente zu den Verdichtungskörpern festgestellt, wobei gelegentlich beobachtet werden konnte, daß sie vollkommen in die Verdichtungskörper eingebettet liegen (UEHARA et al. 1971, COOKE und CHASE 1971, COOKE und FAY 1972). Nach Isolierung und Negativfärbung der $100 \text{ \AA}$ Filamente erkennt man, daß sie aus längsorientierten Subfilamenten mit einem Durchmesser von ungefähr $20 \text{ \AA}$ zusammengesetzt sind (COOKE und CHASE 1971). Diese $100 \text{ \AA}$ Filamente treten besonders deutlich während der Embryonalentwicklung der glatten Muskulatur (UEHARA et al. 1971), aber auch der quergestreiften Muskulatur hervor (ISHIKAWA et al. 1969). Sie sind

außerdem in Fibroblasten sowohl embryonalen Bindegewebes (MERKER 1961), als auch von Gewebekulturen (KEYSERLINGK 1969, 1970) anzutreffen. Sie haben den gleichen Durchmesser, zeigen einen geschwungenen Verlauf, bestehen aus 20-30 Sub-filamenten und stehen in enger Beziehung zum kontraktile System der Fibroblasten (KEYSERLINGK 1969, 1970 a). Sie weisen also mehrere gemeinsame Kennzeichen auf. Daraus wird verständlich, daß es noch ungeklärt ist, ob diese $100 \text{ \AA}$ Filamente überhaupt an der Kontraktion beteiligt sind und wenn doch, in welcher Weise.

Es sei weiter darauf hingewiesen, daß diese $100 \text{ \AA}$ Filamente rein morphologisch von Filamenten in ganz anderen Zellen wie z.B. Kapillarendothelien (YOHORO und BURNSTOCK 1973) und Darmepithelien (PRINZ et al. 1974) ebenso wenig zu unterscheiden sind wie von den Neurofilamenten (BARDELE 1973). Die Forderung nach einer einheitlichen Filamentfamilie, deren genaue Abklärung hinsichtlich Verbreitung und Bedeutung noch ausstünde, wäre durchaus denkbar.

Durch Röntgenbeugungsdiagramme (ELLIOTT 1964), Rekonstruktionen (HANSON und LOWY 1963, PANNER und HONIG 1967) und Anlagerung von H-Meromyosin (ISHIKAWA et al. 1969) ist nachgewiesen worden, daß die dünnen $50-80 \text{ \AA}$ Filamente Actin enthalten. Bei der Skelettmuskulatur konnte nachgewiesen werden, daß im I-Band das globuläre Actin in der Form zweier umeinander gewundener Fäden vorliegt (HANSON und LOWY 1963, KEYSERLINGK 1971). In Längsrichtung des Filamentes in der Grube zwischen den Actinfäden liegt das Tropomyosin (MOORE et al. 1970), dem mit einer Periodizität von etwa $400 \text{ \AA}$ Troponin aufsitzt (EBASHI und ENDO 1968). Röntgenbeugungsdiagramme haben wahrscheinlich gemacht, daß die Aktivierung des Muskels erfolgt durch eine Bindung des Calciums an Troponin, welches wiederum eine Bewegung

des Tropomyosins über das Actinmonomer verursacht und dadurch die Myosinbindungsstelle des Actins freigibt (WHITE und THORSON 1973, HUXLEY 1973). In der Literatur war kein Hinweis zu finden, ob diese Vorstellung auch auf die glatte Muskulatur der Wirbeltiere übertragen werden darf. Tropomyosin jedenfalls ist im Verhältnis zu Actomyosin in einem höheren Prozentsatz in der glatten Muskulatur vorhanden als in der Skelettmuskulatur (NEEDHAM und WILLIAMS 1963 c).

Weiterhin findet man in der Literatur kaum einen Kommentar zu den feinen, die Myofilamente verbindenden Filamenten. Während Verbindungen zwischen den dicken und den dünnen Filamenten den lateralen Brücken der quergestreiften Muskulatur entsprechen könnten, ist die Bedeutung der die dünnen Filamente verbindenden Strukturen unklar. Es ist zu vermuten, daß sie dem gegenseitigen Halt der dünnen Filamente dienen.

In den durch Aether oder Suprarenin zur Erschlaffung gebrachten Muskelzellen sind die dicken Filamente immer von dünnen Filamenten umgeben, die oft recht wohlgeordnet erscheinen. Gelegentlich findet man stellenweise oder im gesamten Muskelzellquerschnitt keine dicken, sondern nur dünne Filamente. Während frühere Untersucher daraus schlossen, daß das Myosin in diesem Funktionszustand ganz fehlt oder überwiegend in niedermolekularer Form vorliegt, könnte es durchaus sein, daß die Myosinfilamente, unabhängig davon, ob es sich um komplettes oder inkomplettes Myosin handelt, in der Längsrichtung weiter voneinander entfernt liegen, als etwa bei der Kontraktion, und deshalb an manchen Stellen des Schnittes keine dicken Filamente getroffen worden sind.

Bei kontrahierten Muskelzellen, sei die Kontraktion nun durch Acetylcholin oder durch Erhöhung der Kaliumkonzentration im umgebenden Medium ausgelöst, finden sich helle und dunkle Zellen mit ent-

sprechend locker bzw. dicht zusammengelagerten kontraktilem Material. Da nicht nur die Zellorganellen, sondern auch die dicken Filamente in den dunklen Zellen dicht zusammengedrückt sind, entsteht der Eindruck, als stünden diese Zellen unter seitlichem Druck, der vielleicht von den hellen Zellen herrühren kann. Wenn man nicht annehmen will, daß durch die kontraktionsauslösende Substanz ein irgendwie gearteter, von Zelle zu Zelle unterschiedlicher Membraneffekt auftritt, der die Fixierung und anschließende Präparation so beeinflußt, daß die hellen und dunklen Zellen als Kunstprodukte entstehen; LASZT (1972) macht die dunklen Zellen für die tonische Kontraktion, die hellen Zellen für die phasische Kontraktion verantwortlich. In den hellen Zellen kommt es zu einer Trennung von dicken und dünnen Filamenten. Im Zentrum der Zellen sind überwiegend polymorphe dicke Filamente, in der Randzone die dünnen Filamente, zwischen denen dicke Filamente nicht regelmäßig nachzuweisen sind. Als eine gewisse Fortsetzung in dieser Richtung sind die Muskelzellen zu betrachten, in deren Zentrum die aus der Längsrichtung abgewichenen dicken Filamente mit nur ganz vereinzelt dazwischen liegenden dünnen Filamenten vorkommen, während in der Randzone die dünnen Filamente alleine liegen. Es handelt sich hier um das Bild einer Superkontraktion bei lebendem Muskel, wie sie bisher nur an glycerinextrahierten Zellmodellen nach ATP-Kontraktion beobachtet wurde. (KEYSERLINGK 1970).

Die Querschnittsbilder von Muskelzellen, die "in vivo" fixiert wurden, sind denen, die ohne besondere Vorbehandlung "in vitro" fixiert wurden, sehr ähnlich. Das Bild des kontraktilem Materials entspricht weitgehend dem unter Erschlaffung angegebenen.

In Beantwortung der eingangs gestellten Frage läßt sich sagen, daß sich sehr wohl ultrstrukturelle Veränderungen in den verschie-

denen Funktionsstadien feststellen lassen, und zwar in Form einer Umorganisation der Myofilamente innerhalb der Zelle in der oben beschriebenen Art. Spekulationen über den Kontraktionsmechanismus sollen hier nicht angestellt werden. Jede zu entwickelnde Hypothese muß jedoch dieser Umorganisation Rechnung tragen. Es scheint erstrebenswert, Strukturunterschiede, die typisch für einen bestimmten Funktionszustand sind, quantitativ zu erfassen. Dann könnte in Umkehrung der jetzigen Versuchsanordnung der Einfluß von Pharmaka oder anderer biologischer Faktoren auf die glatte Muskulatur getestet werden.

Bemühungen, die Veränderungen des kontraktile Systems selbst, das heißt die Zahl und Anordnung einzelner Myofilamente als Meßdaten mit Hilfe des Quantimeters (FA Metall Research), eines automatisierten Densimeters zu gewinnen, sind praktisch gescheitert, da die Dichtewerte der drei Filamentarten sich schon in nahe gelegenen Bezirken überschneiden.

Wenn man die elektronenmikroskopischen Schnitte quer durch die Muskelzellen bei den verschieden vorbehandelten Präparaten vergleicht, so fallen sofort die erheblichen Größenschwankungen der Zelldurchmesser auf (Abb. 19).

Die Muskelzelle wird bei der Kontraktion kürzer und breiter. In welcher Beziehung stehen nun Verkürzung und Verbreiterung zueinander? Da das Gewicht des Präparates während der Kontraktion und Erschlaffung konstant bleibt, und auf der anderen Seite nicht anzunehmen ist, daß sich die Dichte des Gewebes ändert, kann angenommen werden, daß das Volumen des Präparates und der Muskelzelle konstant bleibt. (BUELBRING und KURIYAMA 1963 b) Aus unseren elektronenmikroskopischen Aufnahmen geht hervor, daß die Volumenkonstanz der Muskelzellen nur annähernd Gültigkeit besitzen kann, da in den kontrahierten dunklen Zellen

alle Zytoplasmaanteile dichter zusammen zu liegen scheinen als in den hellen Zellen. Auf der anderen Seite ist es "in vivo" phasenkontrastmikroskopisch und durch Röntgenbeugungsdiagramme (ELLIOTT 1964), sowie elektronenmikroskopisch nachgewiesen worden, daß das kontraktile System der quergestreiften Muskulatur Kontraktion und Erschlaffung bei Volumenkonstanz durchführt ($l \cdot d^2 = \text{konst.}$; d = Querschnittsfläche, l = Länge der Muskelfaser). Daraus geht hervor, daß die Vergrößerung der Querschnittsfläche dem Grad der Verkürzung des Muskels entspricht. Querschnittsfläche (d^2) und Länge (l) verhalten sich umgekehrt proportional zueinander: $l = \frac{1}{d^2}$. Die Querschnittsfläche, die mit Hilfe des Planimeters oder des Quantimeters leicht zu bestimmen ist, kann uns daher als charakteristische Größe für den jeweiligen Kontraktionszustand dienen. Die bei einem bestimmten Funktionszustand gefundenen Muskelzellquerschnitte werden mit denen eines zweiten, anderen Funktionszustandes verglichen. Es ist übersichtlicher, die jeweiligen Werte der Größe nach zu ordnen. So erhält man für jeden Querschnitt eine Kennlinie (Abb. 20). In der Ordinate ist die Fläche, in der Abszisse sind die Werte nach Größe aufgereiht. Um festzustellen, ob die gefundenen Querschnitte nicht nur zufällig voneinander abweichen, bietet sich der Wilcoxon-Test an (Geigy-Tab), der solche Reihen miteinander vergleicht. Zwei interessierende Reihen werden ineinander rangiert, jeder Wert erhält eine Rangzahl. Es wird eine Quersumme der Rangzahlen einer Reihe gebildet und diese mit tabellierten Werten verglichen. Dann läßt sich sagen, ob bei einer bestimmten Irrtumswahrscheinlichkeit, auf die man sich festlegen muß, die Werte der einen Querschnittsgruppe zufällig von der anderen abweicht, oder ob die beiden Gruppen wirklich unterschiedlich sind. Die Rechnung ergab, daß sich bei einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% alle Querschnitte voneinander unterscheiden (Musterrechnung siehe Seite 84)

E. ZUSAMMENFASSUNG

=====

Der Dünndarm der Maus wurde "in vitro" mit verschiedenen Pharmaka behandelt und seine ultrastrukturellen Veränderungen elektronenmikroskopisch untersucht.

Die Gestalt der erschlafften Muskelzellen, erzeugt durch Aetherdämpfe oder Suprarenin, ist annähernd gleich groß, rund oder länglich und weist eine gleichmäßige elektronenoptische Dichte auf. Die kontrahierten Muskelzellen, erzeugt durch Acetylcholin oder K Cl, zeigen starke Kontrast- und Größenunterschiede. Sie sind oft bizarr geformt und ineinander verzahnt.

Hinsichtlich des filamentären, kontraktilen Systems ergab sich, daß sowohl dicke, als auch dünne Filamente in allen Funktionsstadien nachgewiesen werden konnten, es kommt lediglich zu einer Umorganisation der Myofilamente innerhalb der Zelle. Die polymorphen, kontrastreichen $120-200 \text{ \AA}$ dicken Filamente sind als inkomplette Myosindarstellungen anzusehen. Die dünnen $50-80 \text{ \AA}$ Actinfilamente stehen mit ihnen und auch untereinander über feinere $20-30 \text{ \AA}$ Filamente in Verbindung.

Die $100 \text{ \AA}$ Filamente sind ebenfalls in allen Funktionsstadien anzutreffen. Sie sind von runder Gestalt, kontrastreich und mit einem hellen Hof umgeben, meist liegen sie in Gruppen zusammen. Sie gehören nicht dem Actomyosinkomplex an. Wohl besteht aber ein Zusammenhang zu den Verdichtungskörpern.

Die Zellorganellen zeigen eine für die verschiedenen Funktionsstadien typische unterschiedliche Anordnung.

F. ABBILDUNGEN
=====

Dünndarm Maus

Die Darmstücke werden in eine Krebslösung mit Carbogen (97% O₂ : 3% CO₂) eingebracht und befestigt. Nach Einpendeln des Schreibers auf eine Gerade beginnt die Behandlung mit verschiedenen Substanzen.

A) Kontraktion mit Acetylcholinchlorid:

Zugabe von Acetylcholinchlorid auf eine Konzentration von $1 : 10^{-5}$. Schnelles Ansteigen der Kurve (=Kontraktion), kurzer Abfall und erneuter, langsamerer Anstieg. Nach Erreichen eines Maximums keine Veränderung durch eine zweite Gabe von Acetylcholinchlorid gleicher Menge. Es wird mit 5%-igem Glutaraldehyd fixiert ohne Reaktion im Kurvenverlauf.

B) Kontraktion mit Acetylcholinchlorid:

Zugabe von Acetylcholinchlorid auf eine Konzentration von $1 : 10^{-5}$. Steiler Anstieg und steiler Abfall bis zur Hälfte. Dann wieder stufenweises Ansteigen bis knapp über das erste Maximum. Fixierung mit 5%-igem Glutaraldehyd ohne Reaktion im Kurvenverlauf.

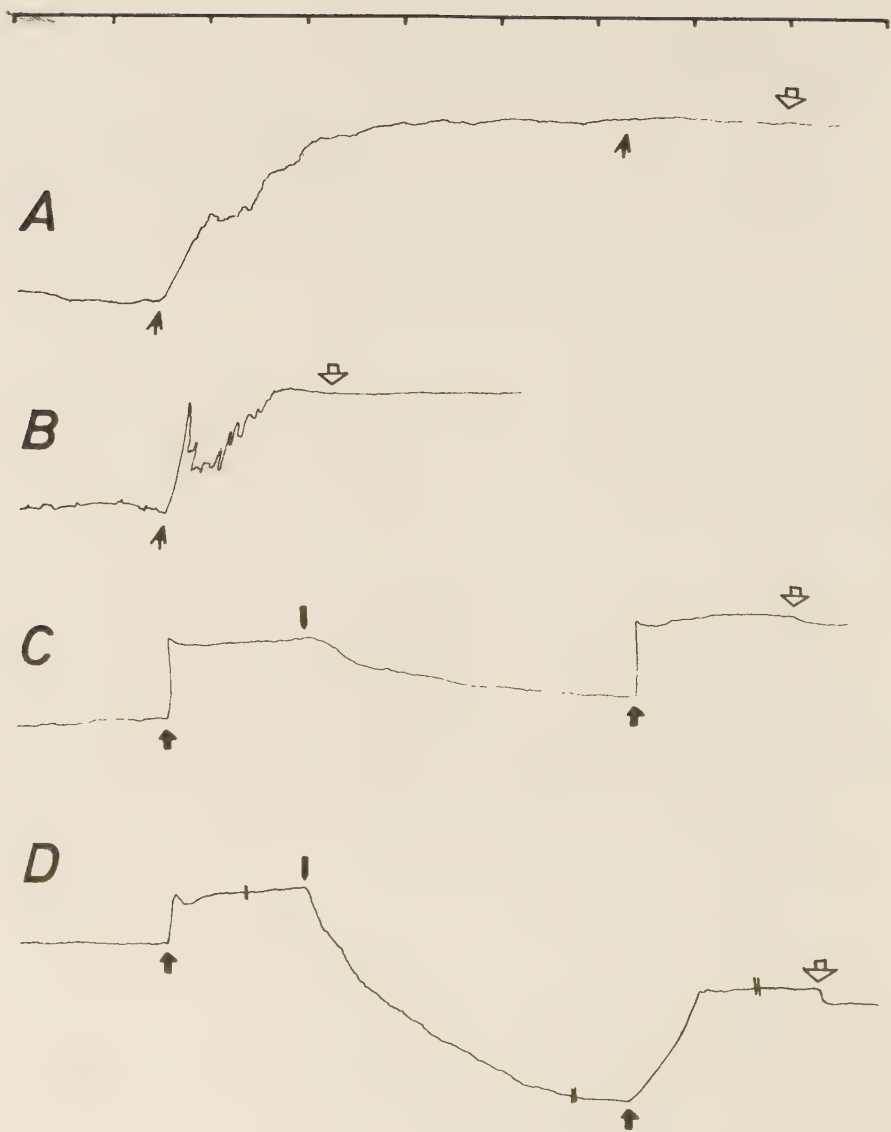
C) Kaliumkontraktur:

Zugabe von KCl (Endkonzentration 40 mVal/l). Senkrechtes Ansteigen der Kurve. Nach Erreichen eines Maximums leichter Abfall und Auslaufen in eine Gerade. Mehrmaliges Spülen mit Nährlösung (erste Spülung ca. 4 min. nach KCl-Gabe): Kurve fällt langsam ab, bleibt aber über dem Ausgangsniveau. Eine zweite Zugabe KCl gleicher Menge ergibt dieselbe Reaktion: steiler Anstieg mit kurzem Abfall und nachfolgender Geraden. Bei Fixierung leichter Abfall der Kurve trotz Zusatz von KCl zur Fixierlösung (= 5%-iger Glutaraldehyd + 40 mVal KCl).

D) Kaliumkontraktur :

(Versuch entsprechend C., doch statt Carbogen reiner Sauerstoff, daher pH über dem optimalen Bereich bis ca. 8,4).

Zugabe von KCl (Endkonzentration 40 mVal/l). Verlauf entspricht Kurve C.: steiler Anstieg, leichter Abfall mit nachfolgender Geraden, doch Maximum liegt tiefer als in C. Spülung mit Nährlösung. Rascher Abfall bis weit unter das Ausgangsniveau. Zweite Zugabe von KCl gleicher Menge: Kurve steigt langsam an und geht nach Erreichen eines Maximums in Gerade über, bleibt jedoch unter dem Ausgangsniveau. Bei Fixierung mit 5%-igem Glutaraldehyd + 40 mVal KCl deutliches Absinken im Kurvenverlauf.



Dünndarm Maus

Die Darmstücke werden in eine Krebslösung mit Carbogen eingebracht und befestigt. Nach Einpendeln des Schreibers auf eine Gerade beginnt die Behandlung mit verschiedenen Substanzen.

A) Kontrollversuch:

Nährlösung ohne Zusatz, Kurve verläuft waagrecht.

Bei Fixierung mit 5%-igem Glutaraldehyd keine Reaktion im Kurvenverlauf.

B) Erschlaffung mit Aetherdämpfen:

Kurve zeigt starke Ausschläge (=Peristaltik). Einleitung von Aetherdämpfen über 7 min. Langsamer Abfall der Kurve unter Beibehaltung der Ausschläge.

Danach weiteres Abfallen bis zu einem Minimum und Auslaufen in eine Gerade. Bei Fixierung mit 5%-igem Glutaraldehyd erfolgt keine Reaktion im Kurvenverlauf.

C) Erschlaffung mit Suprarenin:

Zugabe von Suprarenin auf eine Konzentration von $1:10^{-5}$.

Langsamer Abfall der Kurve, nach Erreichen eines Minimums Einstellung auf eine Gerade. Die Fixierung mit 5%-igem Glutaraldehyd zeigt keine Reaktion im Kurvenverlauf.



A



B



C

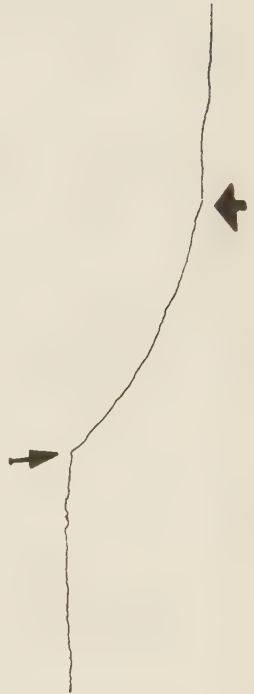


Abb. 1

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung durch Aetherdämpfe.

Kreisförmige Anordnung von 50-80 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamenten um ein 120-200 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filament, wobei querverlaufende Filamente eine Verbindung herzustellen scheinen (siehe Kreis).

F = 100 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamente

Ff = 50-80 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamente

Fd = 120-200 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamente

Vk = Verdichtungskörper

Mt = Mikrotubuli

Ve = Vesikel

K = Zellkern

Mi = Mitochondrien

ER = Endoplasmatisches Reticulum

R = Ribosom

Vergrößerung: 1 : 77000

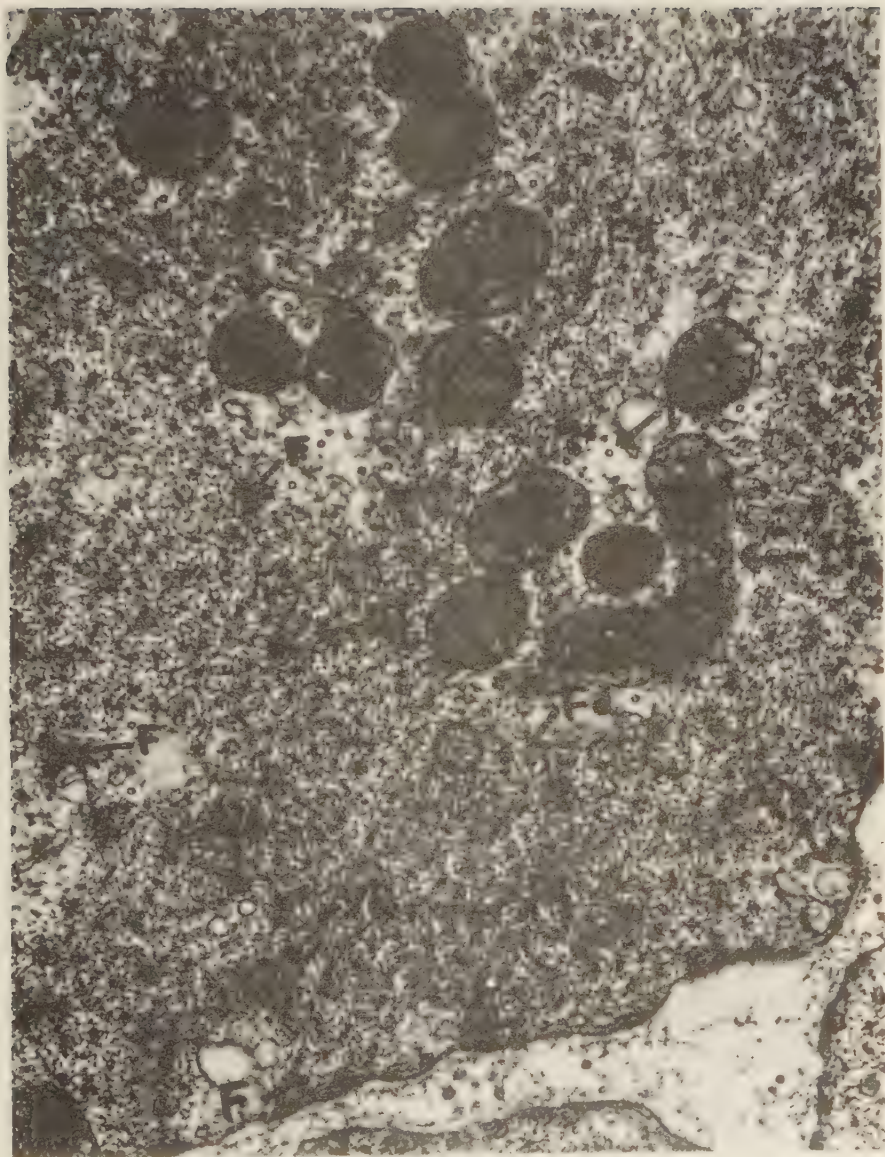


Abb. 2

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung durch Aetherdämpfe.

Die Vesikel liegen entweder frei im Zellinnern oder dicht unter der Zellmembran, wobei sie teilweise mit dieser in Verbindung stehen und teilweise zum Inter-cellularraum offen sind.

F = 100 Å[■] Filamente
Ff = 50-80 Å[○] Filamente
Fd = 120-200 Å[●] Filamente
Ve = Vesikel

Vergrößerung: 1 : 77000

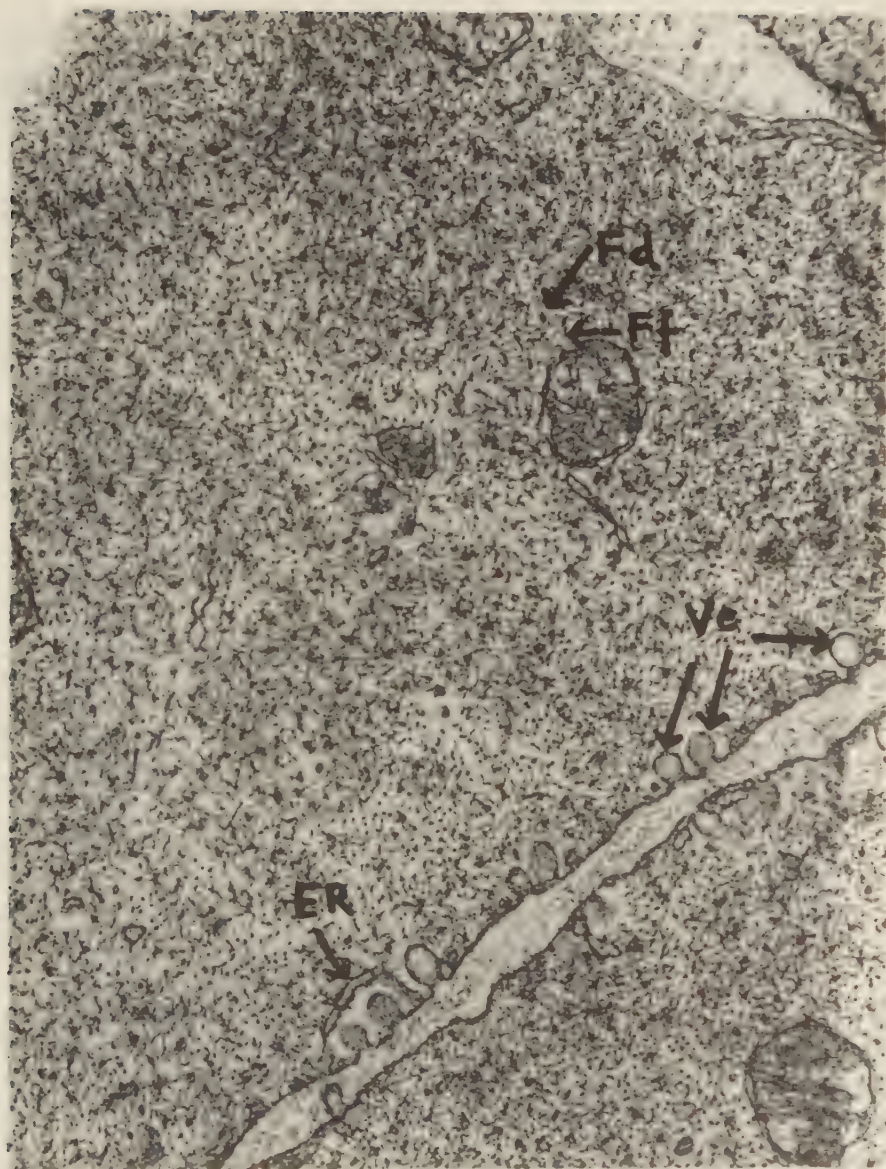


Abb. 3

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung durch Aetherdämpfe.

Schläuche des endoplasmatischen Reticulums treten mit einer kolbenförmigen Erweiterung des Endabschnittes ganz dicht an die Zellmembran heran.

ER = endoplasmatisches Reticulum

Ve = Vesikel

Vergrößerung: 1 : 77000



Abb. 4

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung
durch Aetherdämpfe.

Schläuche des endoplasmatischen Reticulums kann
man gelegentlich von der Zellmembran bis zu einem
Mitochondrium verfolgen.

Mi = Mitochondrien

ER = endoplasmatisches Reticulum

Vergrößerung: 1 : 35000



Abb. 5

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung
durch Aetherdämpfe.

Die Schläuche des endoplasmatischen Reticulums können
auch zwischen zwei Mitochondrien verlaufen, wobei sie
an dem einen mit der kolbenartigen Erweiterung, an dem
anderen mit ihrer Längsseite ansetzen.

Vergrößerung: 1 : 105000



Abb. 6

"in vitro"fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung
durch Suprarenin.

In den Arealen mit den Mitochondrien sind Hohlräume
des endoplasmatischen Reticulums, freie Ribosomen
und Mikrotubuli zu finden.

Mi	=	Mitochondrien
ER	=	endoplasmatisches Reticulum
R	=	Ribosom
Mt	=	Mikrotubuli

Vergrößerung: 1 : 77000

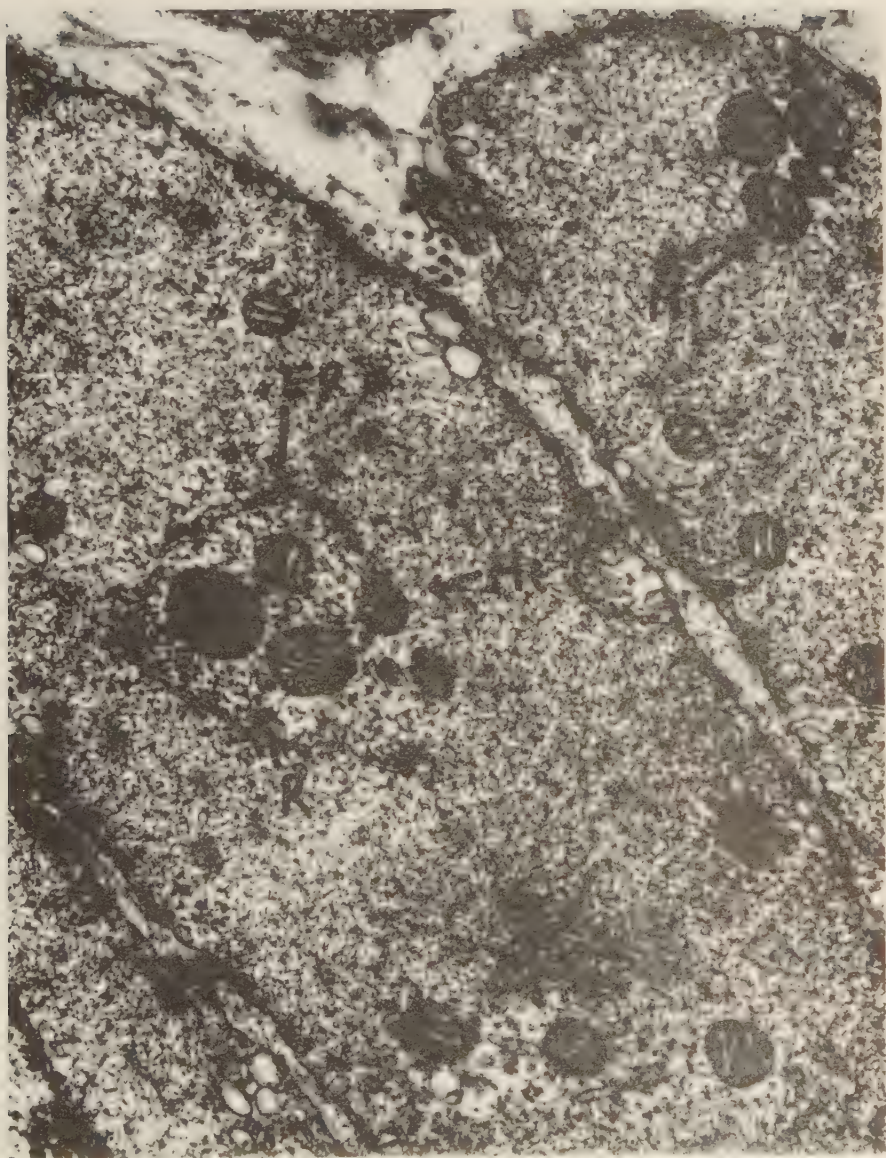


Abb. 7

"in vitro"fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung
durch Suprarenin.

Die Häufigkeit und Größe der Verdichtungskörper
wechselt in den einzelnen Zellquerschnitten erheblich.

Vk = Verdichtungskörper

Vergrößerung 1 : 77000

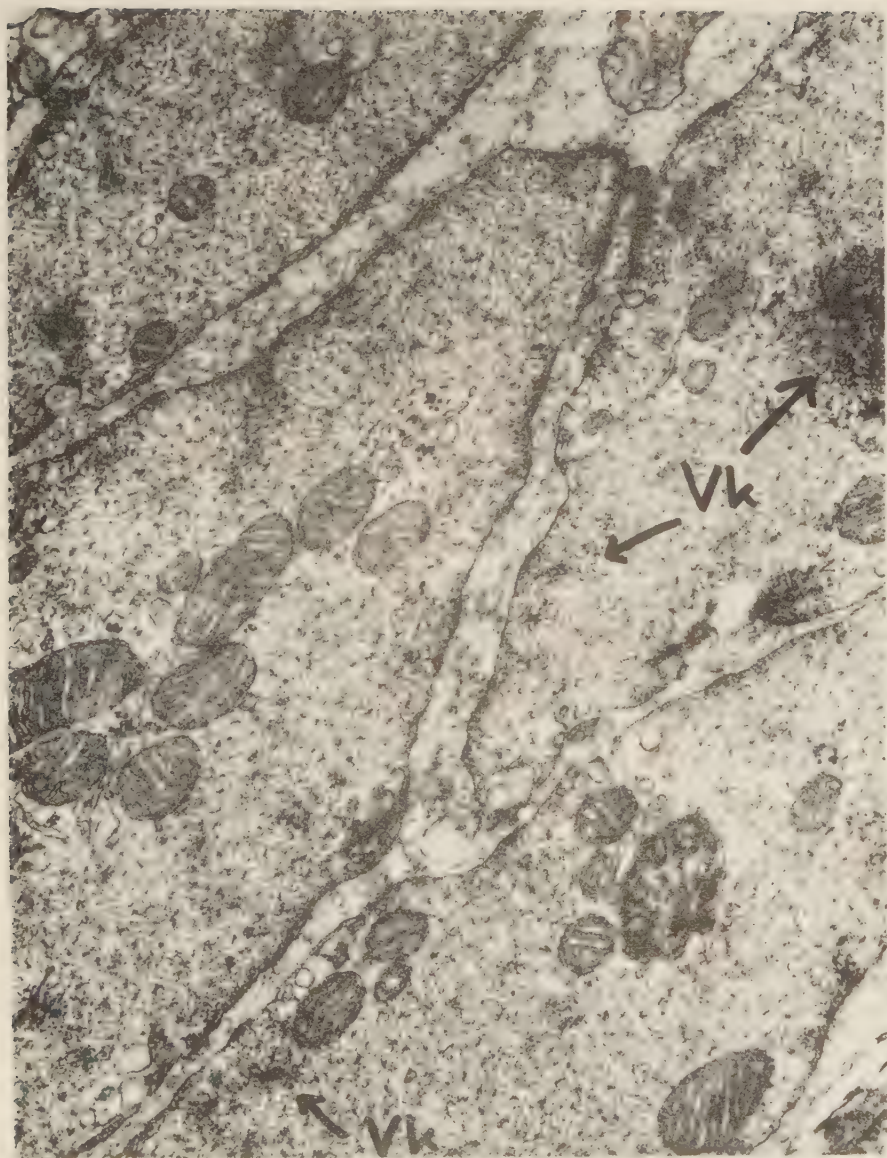


Abb. 8

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Erschlaffung durch Suprarenin.

Die 120-200 Å Filamente zeigen eine regelmäßige Anordnung, sie sind von 50-80 Å Filamenten umgeben und stehen mit diesen über querverlaufende Filamente in Verbindung.

Vergrößerung: 1 : 77000

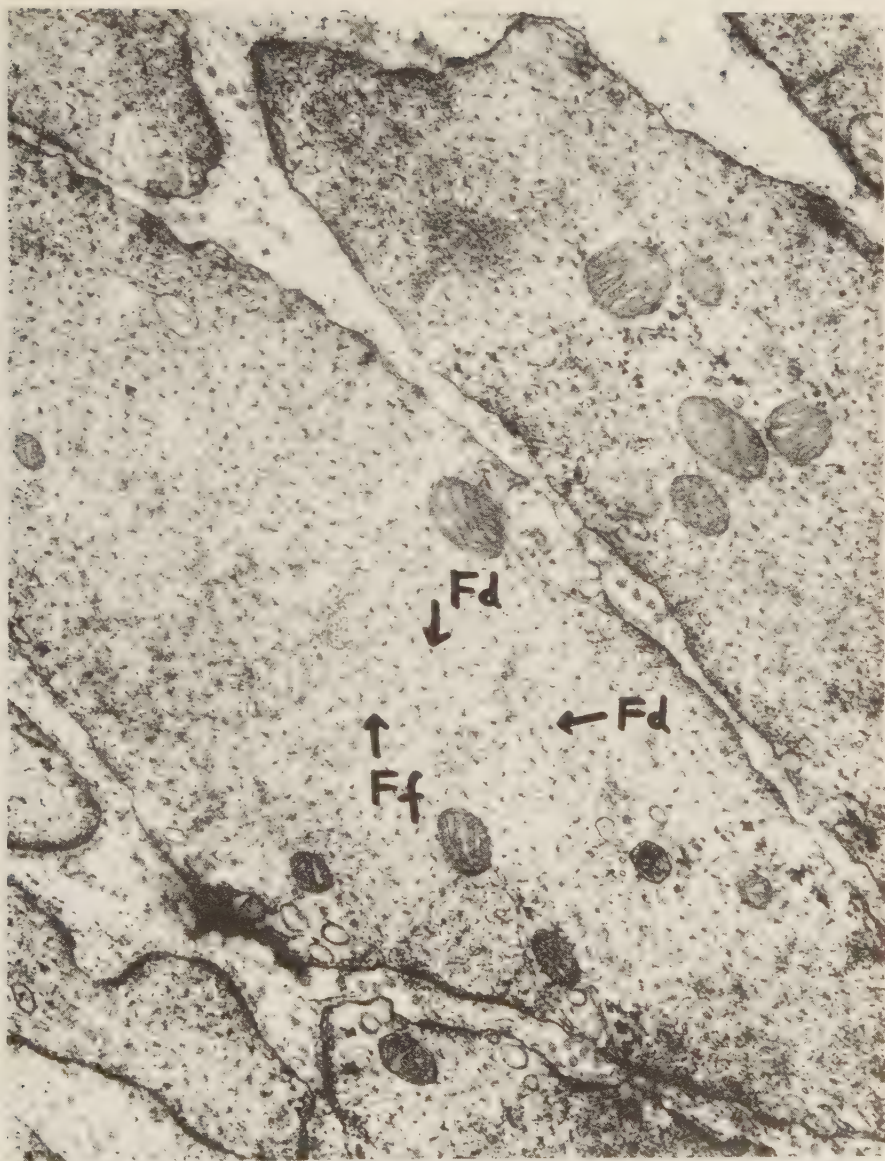


Abb. 9

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion
durch Acetylcholin.

Auffällig sind die unterschiedlichen Kontraste und
Größen der Muskelzellen.

Vergrößerung: 1 : 35000

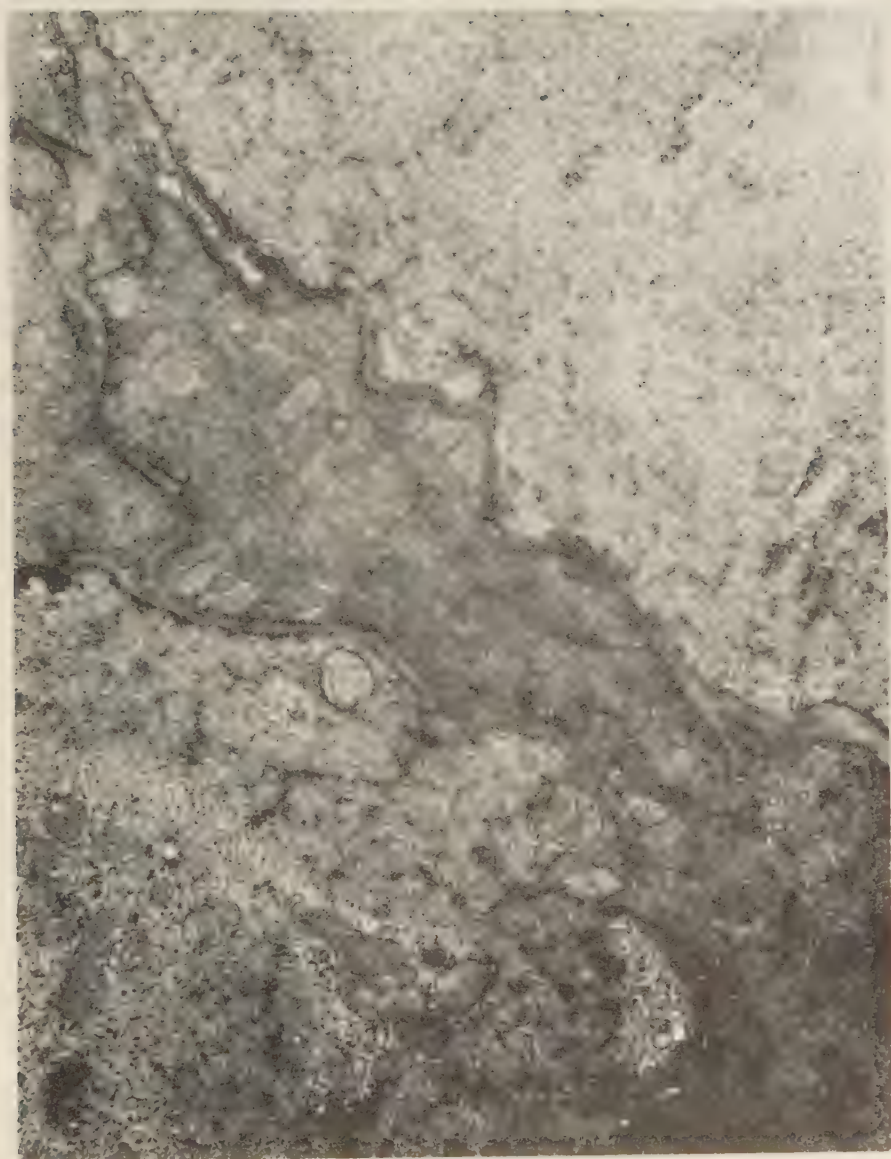


Abb. 10

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion
durch Acetylcholin.

Die dicken 120-200 Å⁰ Filamente liegen dichter beisammen,
gelegentlich verschmelzen sie miteinander zu bandähnlichen
Strukturen. Die 100 Å⁰ Filamente haben keinen Hof mehr.
Auffallend sind die Verdichtungskörper und die Randver-
dichtungen, die miteinander in Verbindung stehen.

F = 100 Å⁰ Filamente
Fd = 120-200 Å⁰ Filamente
Vk = Verdichtungskörper
Rv = Randverdichtungen

Vergrößerung: 1 : 70000

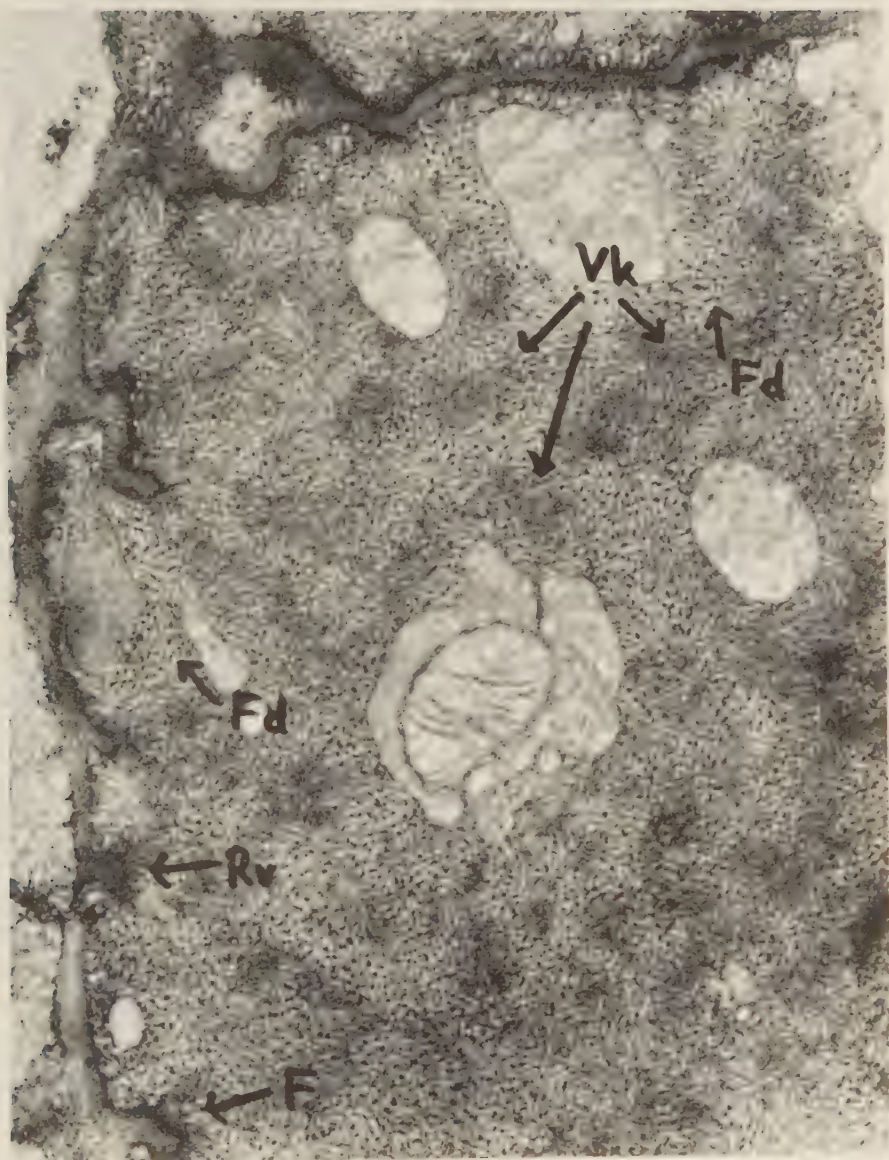


Abb. 11

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion
durch Acetylcholin.

Man kann hellere und weniger helle Areale unterscheiden, in den helleren Arealen des Zellinneren sind hauptsächlich die polymorphen, dicken Filamente zu finden, in den weniger hellen Randzonen überwiegen die dünnen Filamente.

Ff = 50-80 Å Filamente

Fd = 120-200 Å Filamente

Vergrößerung: 1 : 70000

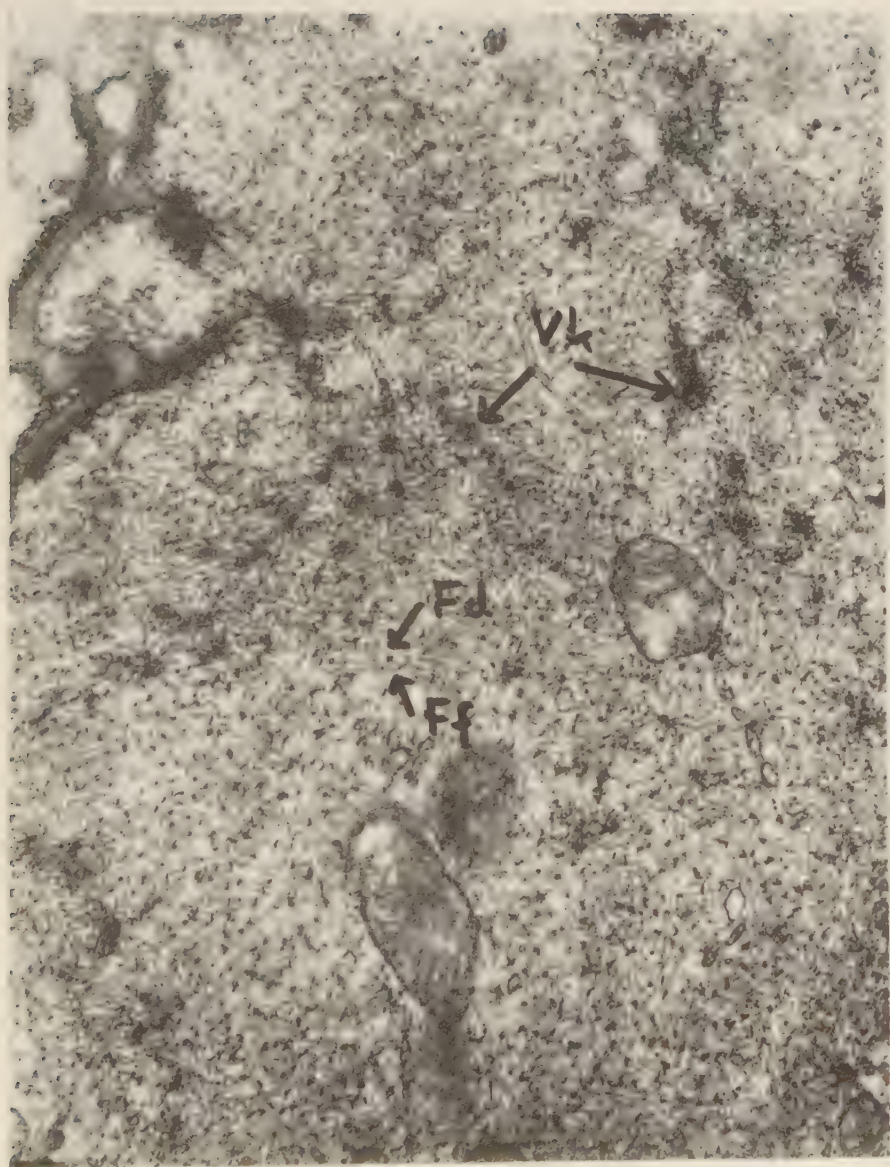


Abb. 12

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion
durch Acetylcholin.

An der Zellmembran finden sich Randverdichtungen,
Mitochondrien und große Ansammlungen von Vesikeln.

Rv = Randverdichtungen

Mi = Mitochondrien

Ve = Vesikel

Vergrößerung: 1 : 70000



Abb. 13

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion durch Erhöhung der Kalium-Jonen-Konzentration.

Charakteristisch für die dunkler Zellen ist die gleichmäßige Verteilung der Filamente und Verdichtungskörper über den gesamten Zellquerschnitt. Die dicken Filamente sind unterschiedlich weit voneinander entfernt, manchmal berühren sie einander und bilden so bandähnliche Strukturen.

Fk = Verdichtungskörper
Fd =, 120-200 Å Filamente

Vergrößerung: 1 : 77000

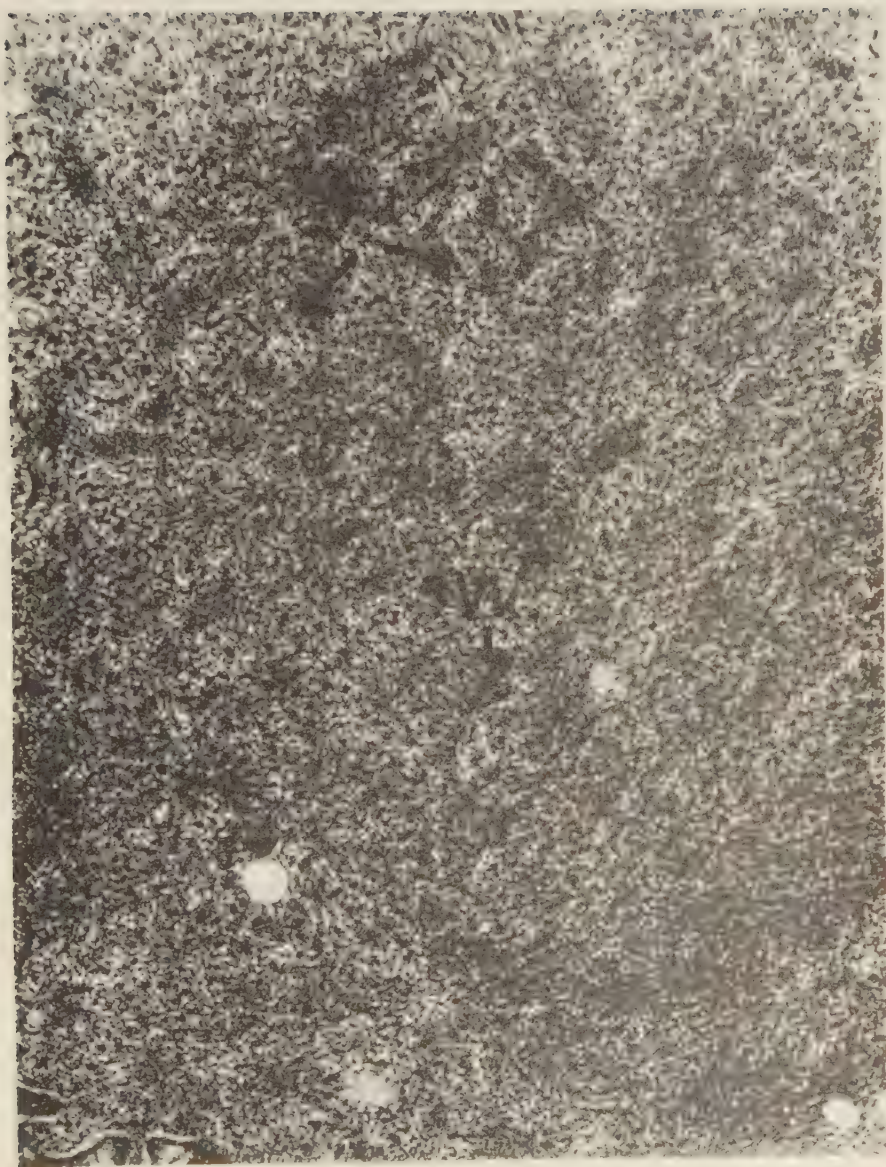


Abb. 14

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Kontraktion
durch Erhöhung der Kalium-Jonen-Konzentration.

Hier finden sich hellere Areale mit überwiegend
dicken und querverlaufenden Filamenten und weniger
helle Randzonen mit vorwiegend dünnen Filamenten.

Fd = 120-200 Å Filamente

Ff = 50-80 Å Filamente

Fq = querverlaufende Filamente

Vergrößerung: 1 : 50000

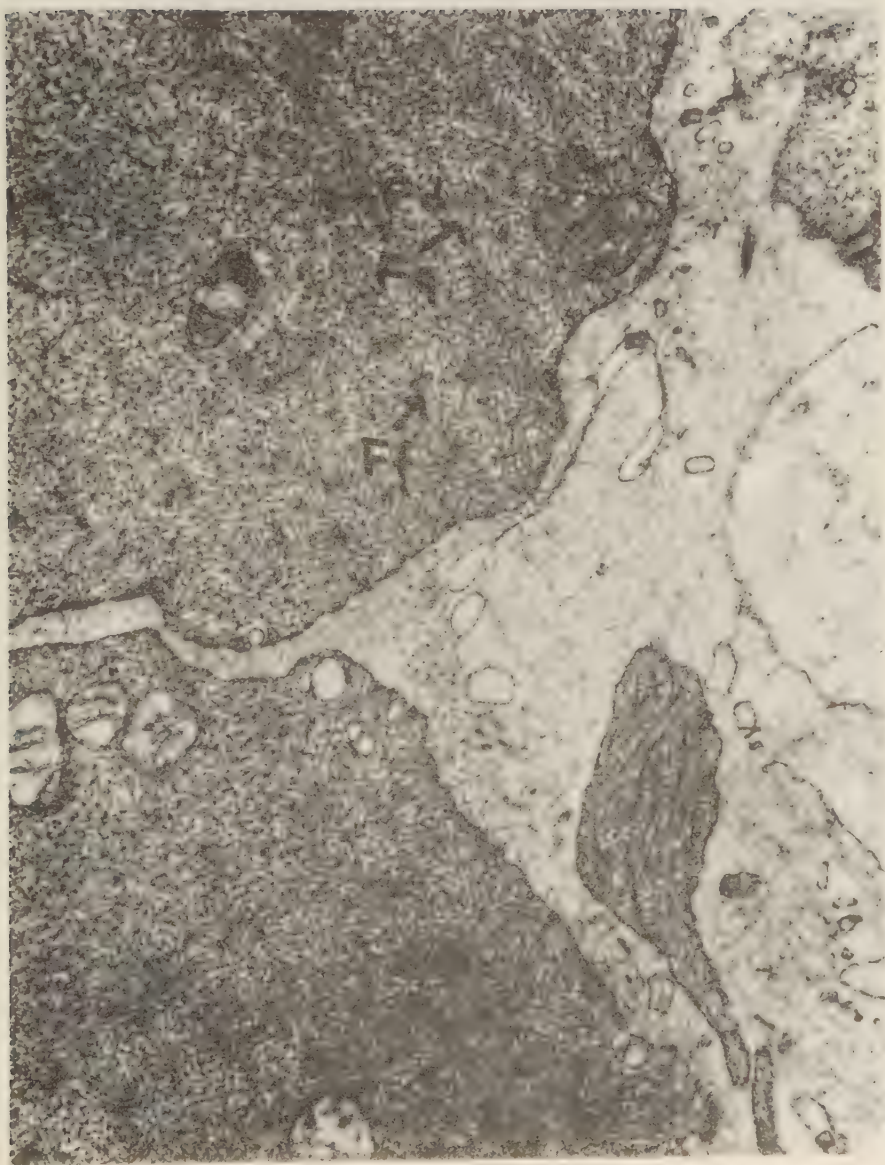


Abb. 15

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach zweimaliger Kontraktion durch Erhöhung der Kalium-Jonen-Konzentration.

Die Zellmembran ist mit zahlreichen Randverdichtungen versehen, die mit den Verdichtungskörpern im Zellinnern in Verbindung stehen.

Rv = Randverdichtungen

Vk = Verdichtungskörper

Vergrößerung: 1 : 20000

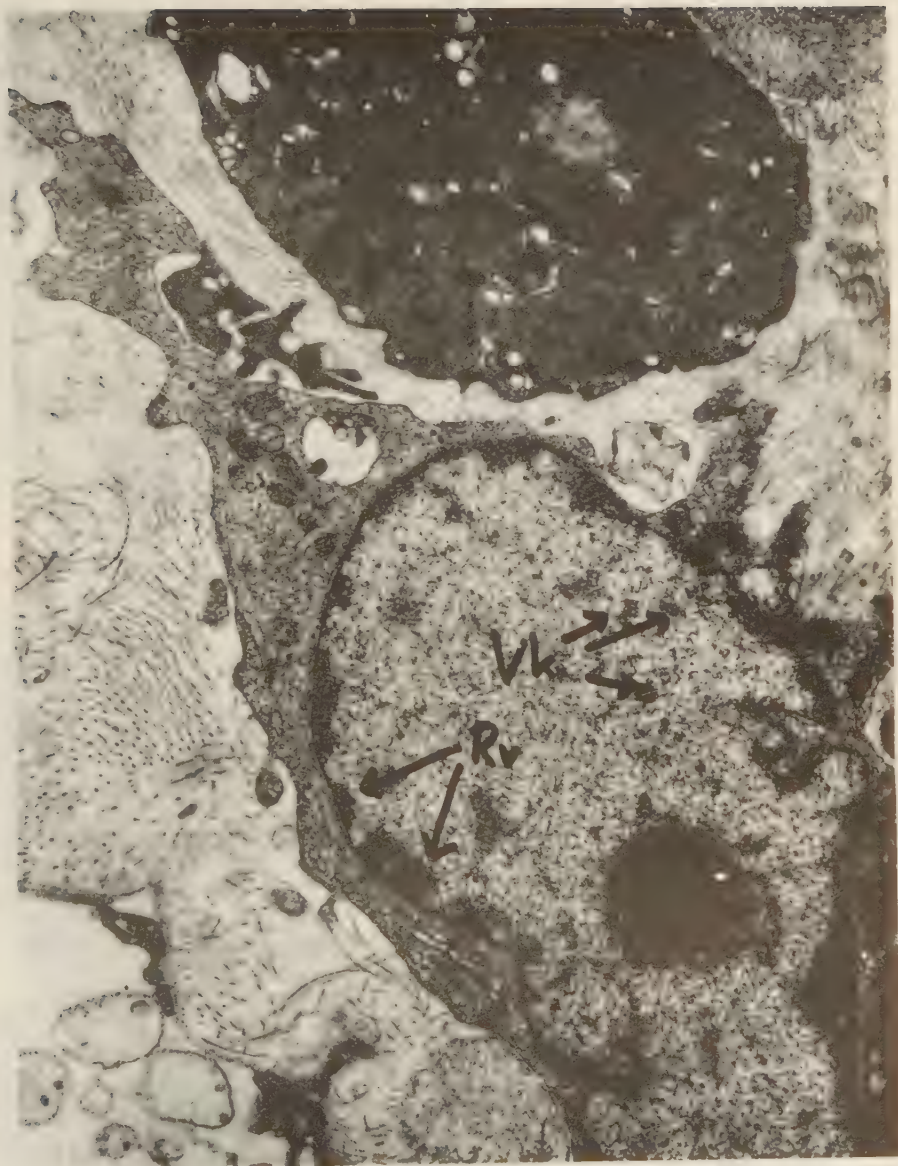


Abb. 16

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Superkontraktion.

Die kontraktilen Filamente haben ihre Orientierung in der Längsrichtung der Zelle verloren. Im Zentrum dominieren die dicken Filamente, im Randgebiet die dünnen Filamente.

Ff = 50-80 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamente

Fd = 120-200 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$ Filamente

Vergrößerung: 1 : 20000



Abb. 17

"in vitro" fixiertes Muskelpräparat nach Superkontraktion.

Die im Zentrum liegenden dicken Filamente sind zu einzelnen Zügen zusammengefaßt und verlaufen in alle Richtungen des Raumes, das kontraktile Material unmittelbar unter der Zellmembran ist quergetroffen, hat also die Orientierung in der Längsrichtung der Zelle beibehalten.

Vergrößerung: 1 : 50000

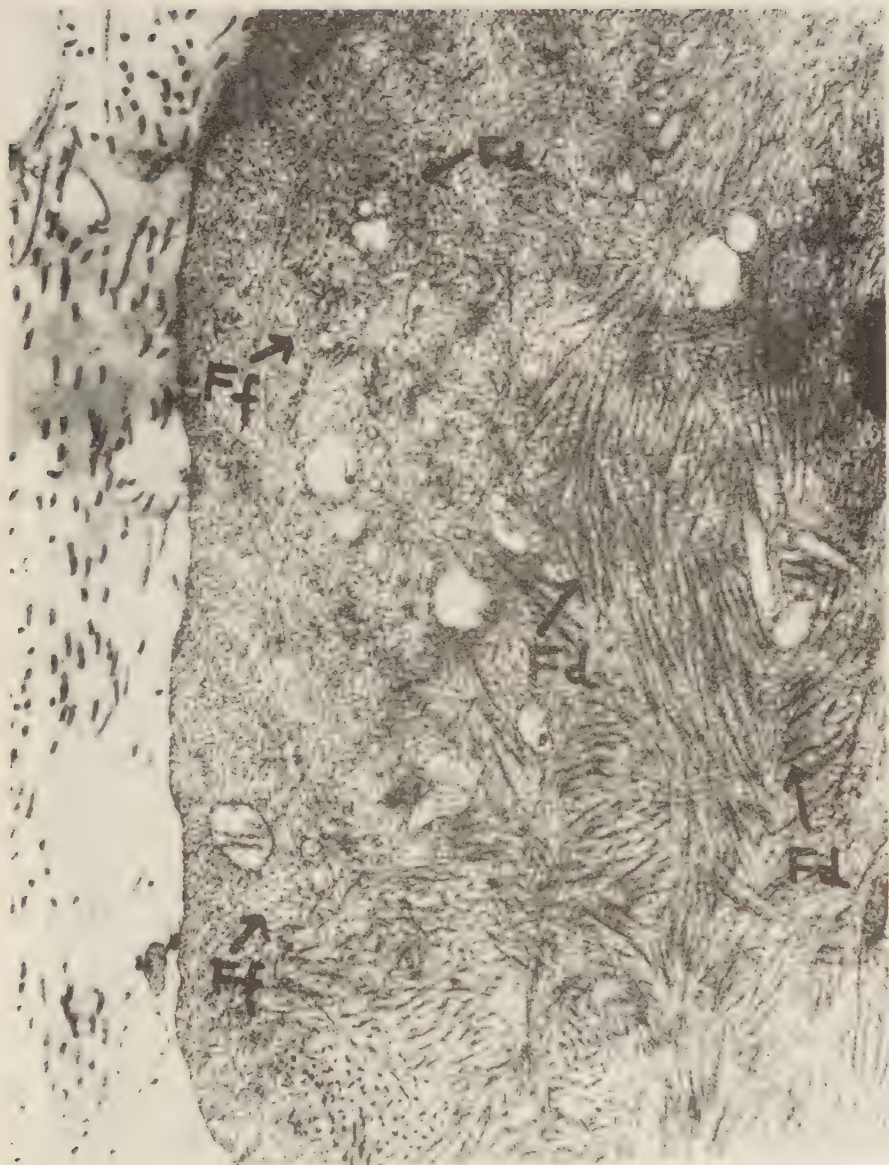


Abb. 18

"in vivo" fixiertes Muskelpräparat.

Die meist runden Metochondrien liegen als Gruppe dicht zusammen im Zentrum. Das kontraktile Material liegt ohne regelmäßige Anordnung über den ganzen Zellquerschnitt verteilt.

Vergrößerung: 1 : 77000

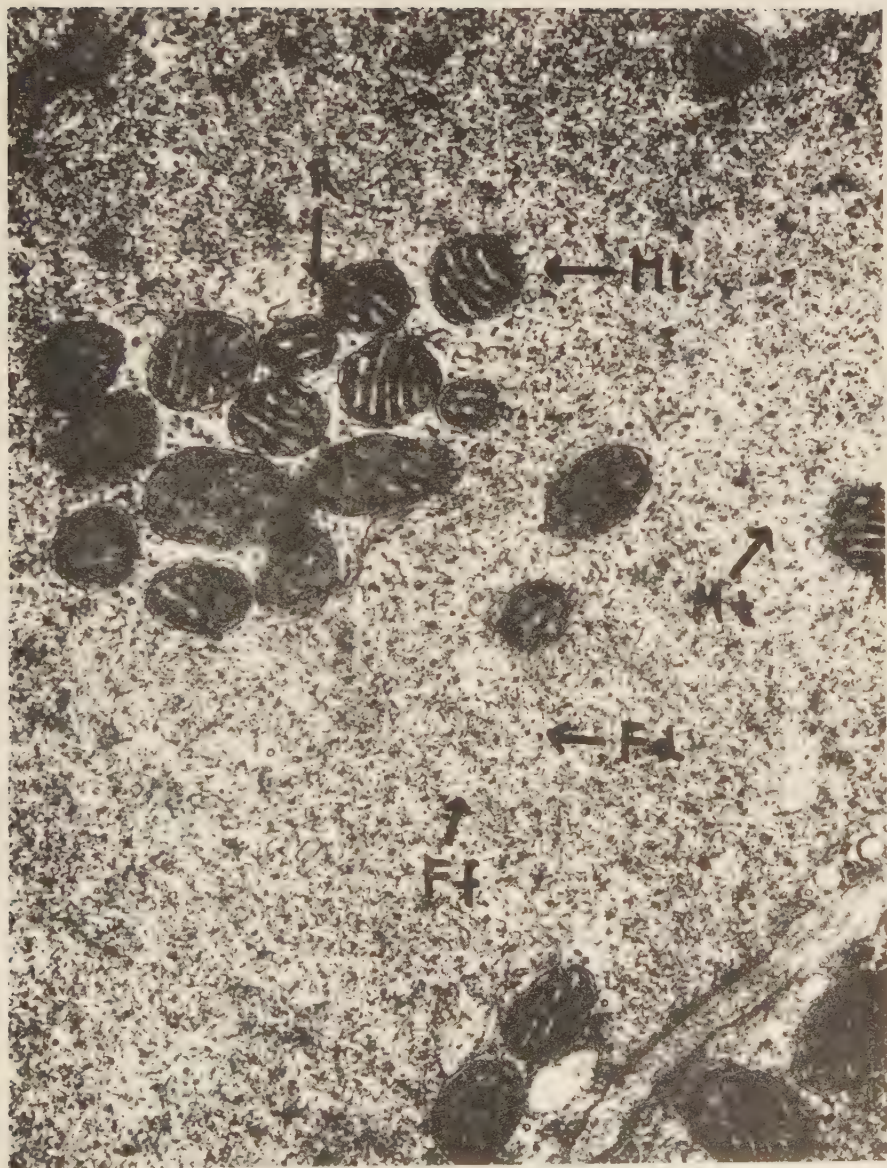
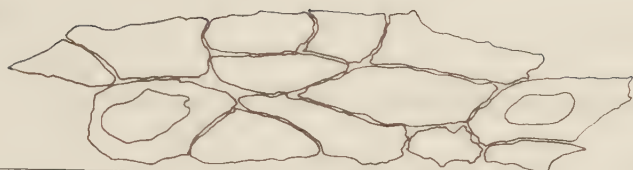


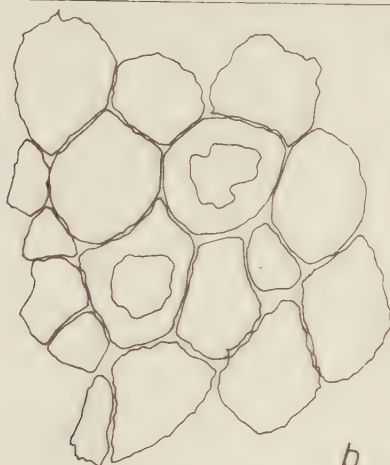
Abb. 19

Muskelzellquerschnitte im Vergleich:

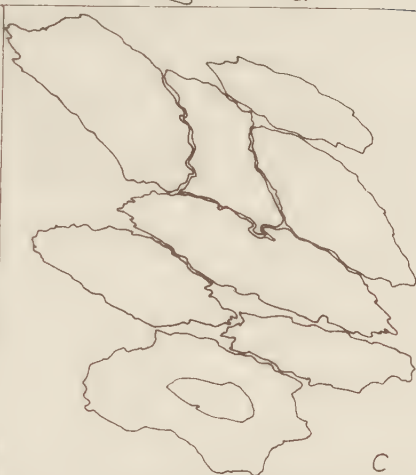
- a) Erschlaffung mit Suprarenin
- b) Erschlaffung mit Aetherdämpfen
- c) unbehandelt
- d) Kontraktion durch KCl
- e) Kontraktion durch Acetylcholin



a



b



c



d



e

Abb. 20

Die Kennlinien der einzelnen Muskelzellquerschnitte .

----- : Acetylcholin
————— : KCl
—●—●—●—●— : unbehandelt
—○—○— : Aetherdämpfe
—•—•—•—•— : Suprarenin



WILCOXON - TEST

D 209 (unbehandelt) N1= 25; D 211 (KCl) N2= 25

Wert N1	79	174	181	184	192	200	209	233	244	259	280						
Wert N2	38	152	174					234			284	288					
Rangzahl	1	2	3	4,5	4,5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Wert N1	320			331	351		367		387	413	419	460		467	469		
Wert N2		321	329			359		380			437		466				490
Rangzahl	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34

T1= Summe der Rangzahlen von N1=508,5 für 1% : 505-770; für 5% : 536-739; N1=N2= 25

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % (5 %) kann die O-Hypothese, daß D 209 und D 211 gleich sind, verworfen werden.

G. LITERATURE

- | | |
|---|---|
| BARDELE, Ch. F. | Struktur, Biochemie und Funktion d. Microtubuli. Übersichtsreferat
Cytobiologie <u>7</u> 442-488 (1973) |
| BUELBRING, E.
GOLENHOFEN, K | Oxygenconsumption by the Isolated Smooth Muscle of Guinea Pig Taenia Coli
J. Physiol. <u>193</u> 213-224 (1967) |
| BUELBRING, E.
KURIYAMA, H. | The Effect of Adrenaline on the Smooth Muscle of the Guinea Pig Taenia Coli in Relation of the Degree of Stretch
J. Physiol. (Lond.) <u>169</u> 198-212 (1963 b) |
| BOZLER, E. | Conduction, Automaticity and Tonus of Visceral Muscle
Experientia <u>4</u> 213-218 (1948) (Basel) |
| CAMPBELL, G.R.
UEHARA, Y.
MARK, G.
BURNSTOCK, G. | Fine Structure of Smooth Muscle Cells Grown in Tissue Culture
J. Cell Biol. <u>49</u> 21-34 (1971) |
| CHOI, J.K. | Fine Structure of Smooth Muscle of Chickens Gizzard
Proc. 5th. Int. Congr. Elect. Micr. Philadelphia Vol. 2 M 9 (1962) |
| COOKE, P.H.
CHASE, R.H. | Potassium Chloride-insoluble Myofilamentous in Vertebrate Smooth Muscle Cells
Exp. Cell Res. <u>66</u> 417-425 (1971) |
| COOKE, P.H.
FAY, F.S. | Correlation between Fiber Length, Ultrastructure, and the Length-Tension-Relationship of Mammalian Smooth Muscle
J. Cell Biol. <u>52</u> 105-116 (1972) |

- EBASHI, S.
ENDO, M. Calcium Ion and Muscle Contraction
Proc. Biophys. Mol. Biol. 18
125-183 (1968)
- ELLIOT, G.F. X-Ray Diffraction Studies on Striated
and Smooth Muscle
Proc. Roy. Soc. (Lond.) Ser. B. 160
467-472 (1964)
- FAY, F.S.
COOKE, P.H. Reversible Disaggregation of Myo-
sinfilaments in Vertebrate Smooth
Muscle
J. Cell Biol. 56 399-411 (1973)
- GANSLER, H. Struktur und Funktion der glatten Mus-
kulatur. II. Licht- und elektronenmi-
kroskopische Befunde an Hohlorganen
von Ratte, Meerschweinchen und Mensch
Z. Zellforsch. 55 724-762 (1961)
- GANSLER, H. Phasenkontrast- und elektronenmikros-
kopische Untersuchungen zur Morpho-
logie und Funktion der glatten Muskulatur
Z. Zellforsch. 52 60-92 (1960)
- GREVEN, K. Über die Wiederherstellung des pla-
stischen Tonus der Magenmuskulatur
nach Dehnung
Z. Biol. 103 321-336 (1950b)
- GREVEN, K.
SIEGLITZ, G. Ergänzende Untersuchungen zum Pro-
blem des plastischen Tonus der glat-
ten Magenmuskulatur von Warm- und
Kaltblütern
Z. Biol. 104 100-115 (1951)
- HANSON, J.
LOWY, J. The Structure of F-Actin and of
Actin Filaments Isolated from Muscle
J. Mol. Biol. 6 46-60 (1963)

- HEUMANN, H.G. Über die Funktionsweise glatter Muskelfasern. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Darmmuskulatur der Hausmaus
Cytobiol. 3 259-281 (1971)
- HUXLEY, H.E. Factors Controlling the Movement of the Crossbridges in Muscle
37th Cold Spring Harbour Symp. of Quantitative Biol. (1973)
- ISHIKAWA, H.
BISCHOFF, R.
HOLTZER, H. Formation of Arrowhead Complexes with Heavy Meromyosin in a Variety of Cell Types
J. Cell Biol. 43 312-329 (1969)
- KELLY, R. E.
RICE, R. V. Localization of Myosin Filaments in Smooth Muscle
J. Cell Biol. 37 105-116 (1968)
- KELLY, R. E.
RICE, R. V. Ultrastructural Studies on the Contractile Mechanism of Smooth Muscle
J. Cell Biol. 42 683-694 (1969)
- KEYSERLINGK, D.G. Kontraktilität und Ultrastruktur glycerinextrahierter Fibroblasten aus der Gewebekultur
Protoplasma 67 391-406 (1969)
- KEYSERLINGK, D.G. Über die Bedeutung des intracellulären, kontraktilen Systems für die Lokomotion der Fibroblasten
Cytobiol. 1 259-272 (1970)
- KEYSERLINGK, D.G. Ultrastruktur glycerinextrahierter Dünndarmmuskulzellen der Ratte vor und nach Kontraktion
Z. Zellforsch. 111 559-571 (1970)
- KEYSERLINGK, D.G. Contractility and Ultrastructure of Glycerol - extracted Cellular Models
IX Intern. Kongr. d. Anat., (Leningrad) Abstr. Seite 64 (1970)

- KEYSERLINGK, D.G. Ultrastruktur des Myometriums
der Ratte in verschiedenen funktionellen Stadien
Habilitationsschrift d. Freien
Universität Berlin (1972)
- KEYSERLINGK, D.G. The Ultrastructure of Contractile
Elements in Smooth Muscle Cells
during Various Functional Stages
Vascular Smooth Muscle Ed. E. Betz
Springer Verl. Berlin-Heidelberg-
New York S. 122-124 (1972)
- LANE, B.P.
RHODIN, J.A.G. Cellular Interrelationship and Elec-
trical Activity in Two Types of
Smooth Muscle
J. Ultrastruct. Res. 10 470-488 (1964)
- LASZT, L. Die contractilen Proteine des Ge-
fäßmuskels und ihre ATPase-Wirkung
Vascular Smooth Muscle Ed. E. Betz
Springer Verl. Berlin-Heidelberg-
New York S. 20-22 (1972)
- LOWY, J.
SMALL, J.V. The Organisation of Myosin and Actin
in Vertebrate Smooth Muscle
Nature 227 46-51 (1970)
- MERKER, H.J. Untersuchungen über die Fibrilloge-
nese in der Haut menschlicher Embry-
onen
Z. Zellforsch. 53 411-430 (1961)
- MOORE, P.B.
HUXLEY, H.E.
DE ROSIER, D.J. Reconstruction of F-Actin Thin Fila-
ments and Decorated Thin Filaments
J. Molec. Biol. 50 279-295 (1970)
- NEEDHAM, D.M.
WILLIAMS, J.M. Proteins of the Uterine Contractile
Mechanism
Biochem. J. 89 552-561 (1963)

NEEDHAM, D.M.
WILLIAMS, J.M.

Salt-soluble Collagen in Extracts
of Uterus Muscle and Fetal Meta-
myosin

Biochem. J. 89 546-552 (1963c)

NEEDHAM, D.M.
SHOENBERG C.F.

Proteins of the Contractile Mecha-
nism of Mammalian Smooth Muscle
an their Possible Location in the
Cell

Proc. Roy. Soc. (Lond.) Ser. B 160
517-522 (1964)

PANNER, B.J.
HONIG, C.R.

Filament Ultrastructure and Organization
in Vertebrate Smooth Muscle. Contrac-
tion Hypotheses Based on Localisation
of Actin and Myosin

J. Cell Biol. 35 303-321 (1967)

PANNER, B.J.
HONIG, C.R.

Locus and State of Aggregation of
Myosin in Tissue Sections of Verte-
brate Smooth Muscle

J. Cell Biol. 44 52-61 (1970)

PRINZ, U.

Ultrastrukturelle Veränderungen
glatter Muskelzellen des früh-graviden
Rattenuterus während verschiedener
Funktionszustände

Inaugural-Dissertation der Freien
Universität Berlin

PRINZ, U.
KAPPEL, A.
KEYSERLINGK, D.G.

Ultrastrukturelle Veränderungen in
der Muskulatur des Rattenuterus
während der Schwangerschaft

69. Vers. Anat. Ges. Kiel (1974)
(im Druck)

PROSSER, C.L.
BURNSTOCK, G.
KAHN, J.

Conduction in Smooth Muscle. Compe-
rative Structural Properties

Amer. J. Physiol. 199 545-552 (1960)

- RHODIN, J.A.G. Fine Structure of Vascular Walls in Mammals with Special References to Smooth Muscle Component
Physiol. Rev. 42 Suppl.5 48-87 (1962)
- SCHIRMER, R.H. Die Besonderheiten des kontraktilen Proteins der Arterien
Biochem. Z. 343 269-282 (1965)
- SHOENBERG, C.F. A Study of Myosin Filaments in Extracts and Homogenates of Vertebrate Smooth Muscle
Int. Symp. Biochem. Gefäßwand, Fribourg 1968
Angiologica 6 233-246 (169-182) (1969)
- SHOENBERG, C.F. A Discussion on Recent Developments in Vertebrate Smooth Muscle Physiology
Philosophical Transactions Ser. B 867 197-202 (1972)
- SHOENBERG, C.F.
RÜEGG, J.C.
NEEDHAM, D.M.
SCHIRMER, R.H.
NEMETCHECK-
GANSLER, H. A Biochemical and Electron Microscope Study of the Contractile Proteins in Vertebrate Smooth Muscle
Biochem. Z. 345 255-266 (1966)
- SOMLYO, A.P.
DEVINE, C.E.
SOMLYO, A.V.
RICE, R.V. Filament Organization in Vertebrate Smooth Muscle
"A Discussion in Recent Developments in Vertebrate Smooth Muscle Physiology"
Philosophical Transactions of the Roy. Soc. Ser. B.No. 867 (Lond.) (1973)
- UEHARA, Y.
CAMPBELL, G.R.
BURNSTOCK, G. Cytoplasmic Filaments in Developing and Adult Vertebrate Smooth Muscle
J. Cell Biol. 50 484-497 (1971)

WHITE, D.C.S.
THORSON, J.

The Kinetics of Muscle Contraction

Proc. Biophys. Mol. Biol. 27
175-255 (1973)

YOHORO, T.
BURNSTOCK, G.

Filament Bundles and Contractility
of Endothelial Cells in Coronary
Arteries

Z. Zellforsch. 138 85-95 (1973)

Herrn Professor Dr. med.

Diedrich Graf von Keyserlingk

danke ich herzlich für die Überlassung des
Themas und für die freundliche Unterstützung
bei der Ausarbeitung der Dissertation.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Karla Struwe
für ihre Mithilfe bei der technischen Durch-
führung der Versuche.

Lebenslauf

Am 20. August 1947 wurde ich als Tochter des prakt. Arztes Dr. med. Hubertus Werner und seiner Ehefrau Edith, geb. Kraaz in Mannheim geboren.

Nach Besuch der Grundschule und des humanistischen Gymnasiums in Mannheim bestand ich am 12. Oktober 1966 das Abitur und begann im Wintersemester 1966 mit dem Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Am 24. August 1973 legte ich dort die ärztliche Prüfung ab und erhielt nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit am 7. Februar 1975 die Approbationsurkunde. Seit Februar 1975 bin ich als Assistenzärztin in der chirurgischen Abteilung des Heinrich-Lanz-Krankenhauses in Mannheim tätig.

